

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2002 年 1 月 17 日 (17.01.2002)

PCT

(10) 国際公開番号  
**WO 02/04936 A1**

(51) 国際特許分類<sup>7</sup>: **G01N 27/62, 30/72, H01J 49/00**

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/05961

(22) 国際出願日: 2001 年 7 月 10 日 (10.07.2001)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願2000-210592 2000 年 7 月 11 日 (11.07.2000) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 科学技術  
振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY

CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県川口市  
本町4丁目1番8号 Saitama (JP). 財団法人 神奈川科  
学技術アカデミー (THE KANAGAWA ACADEMY  
OF SCIENCE AND TECHNOLOGY FOUNDATION)  
[JP/JP]; 〒213-0012 神奈川県川崎市高津区坂戸3丁目  
2番1号 Kanagawa (JP).

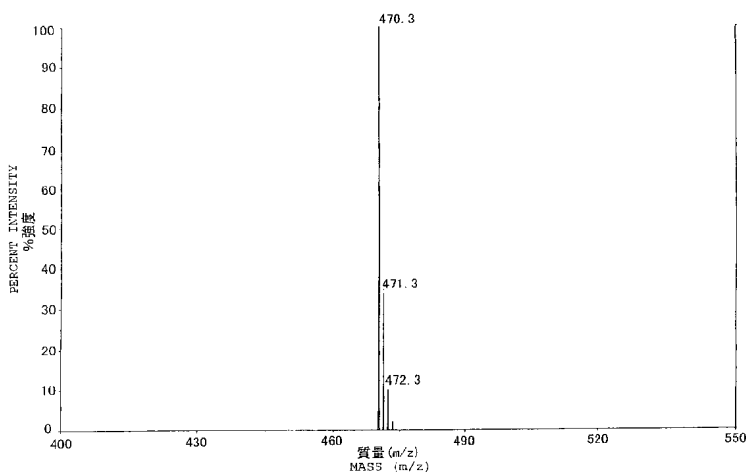
(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 鈴木孝治  
(SUZUKI, Koji) [JP/JP]; 〒211-0954 神奈川県川崎市  
幸区小倉1-1-A705 Kanagawa (JP). 鈴木祥夫 (SUZUKI,  
Yoshio) [JP/JP]; 〒223-0061 神奈川県横浜市港北区日  
吉7-3-10 ハイツ井上410号 Kanagawa (JP).

[続葉有]

(54) Title: PROBE FOR MASS SPECTROMETRY OF LIQUID SAMPLE

(54) 発明の名称: 液状試料の質量分析用プローブ



(57) Abstract: A probe which, when used for ionizing a liquid sample in the mass spectrometry thereof, is effective in efficiently ionizing the sample without adding a protonic solvent to a mobile phase. The probe has a chemical structure represented by the general formula [I]:  $R^2-A-R^1$  wherein  $R^1$  represents an ionic functional group which changes into an ion in solvents;  $R^2$  represents a structure capable of bonding to other substance; and A represents any desired spacer part.

(57) 要約:

液状試料の質量分析の際のイオン化法において、移動相にプロトン性溶媒を添加することなく、試料を効率的にイオン化することができる液状試料の質量分析用プローブが開示されている。本発明のプローブは、一般式[I]



(但し、式中、 $R^1$ は溶媒中でイオンとなるイオン性官能基、 $R^2$ は他の物質と結合し得る構造、Aは任意のスペーサー部を示す)  
で表される化学構造を有する。



(74) 代理人: 谷川英次郎(TANIGAWA, Hidejiro); 〒102-0072 東京都千代田区飯田橋4丁目5番12号 岩田ビル6階 谷川国際特許事務所内 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

## 明細書

## 液状試料の質量分析用プローブ

## 技術分野

本発明は、液状試料の質量分析のためのプローブに関する。

5

## 背景技術

現在、最も高感度、高精度に検体中の試料を定量することができる方法として質量分析測定法が挙げられる。質量分析法を用いて液状試料を測定するにあたり重要なことは、化合物の性質に合わせたイオン化法を選択することである。例えば化合物の不安定要因によって使い分ける場合、大きく分けてハードイオン化と

10 ソフトイオン化の2種類に分けられる。前者の方法としては、電子イオン化法、化学イオン化法及び大気圧イオン化法が挙げられ、後者の方法としてはエレクトロスプレーイオン化法、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法及び高速原子衝撃イオン化法が挙げられる。

15

一方、最近では高速液体クロマトグラフィーで分離した試料をオンラインで質量分析を用いて同定を行う手法(LC/MS)が化学、生物学の分野で頻繁に利用されている。この場合、液体クロマトグラフィーと相性の良いイオン化法は、キャピラリー先端から流出する溶液試料を直接イオン化する方法であるため、先に記した方法のうち、後者の方法が該当する。中でもエレクトロスプレーイオン化質量分析装置と高速液体クロマトグラフィーをオンラインで接続した装置は現在最も

20 汎用されており、タンパク質、糖質をはじめとした生体に不可欠な物質から、近年問題とされている環境ホルモン物質の同定にその威力を十分に発揮している。エレクトロスプレーイオン化の場合、試料の分子イオンピークが検出されることは極めて低く、通常ナトリウムなどが加算された擬分子イオンピークとして観察されるか、あるいはLC/MSでは移動相に酢酸アンモニウム、ギ酸、酢酸などのブ

25 ロトン性溶媒を混入することにより、試料のイオン化を助ける方法が採られている。

液状試料の質量分析の際のイオン化を助ける手段として、液体クロマトグラフィーの移動相にプロトン性溶媒を添加する手法がLC/MSでは一般的となっている。

しかし、i)酢酸アンモニウムは負イオンモードの場合、試料のイオンとアンモニウムイオンがペアとなって感度が低下する、ii)トリフルオロ酢酸は正イオンモードの場合、サンプルイオンとトリフルオロ酢酸イオンがペアとなって感度が低下し、負イオンモードの場合、一部例外を除きイオン化を妨害する、iii)アセトニトリルでは必ず酸を添加しなければならない、またこの際、酢酸アンモニウムでは溶解しないので用いることができない、等の欠点も指摘されている。

#### 発明の開示

従って、本発明の目的は、液状試料の質量分析の際のイオン化法において、移動相にプロトン性溶媒を添加することなく、試料を効率的にイオン化する手段を提供することである。

本願発明者らは、鋭意研究の結果、溶媒中でイオン化する基と、試料化合物中の官能基と反応して共有結合する官能基を1つの分子中に有する化合物をプローブとして用い、該プローブを試料化合物と共有結合させることにより、試料化合物を効率的にイオン化することができることに想到し、かつ、このようなプローブによりイオン化した試料化合物がエレクトロスプレー質量分析により高感度に定量できることを実験的に確認し、本発明を完成した。

すなわち、本発明は、一般式[I]



(但し、式中、 $R^1$ は溶媒中でイオンとなるイオン性官能基、 $R^2$ は他の物質と結合し得る構造、Aは任意のスペーサー部を示す)

で表される液状試料の質量分析用プローブを提供する。また、本発明は、上記本発明のプローブと、液状試料中の試料化合物とを結合させ、得られた結合物を質量分析にかけることを含む質量分析方法を提供する。さらに、本発明は、上記一般式[I]で表される化合物の、液状試料の質量分析用プローブを製造するための使用を提供する。

本発明のプローブを用いれば、エレクトロスプレーイオン化法において、移動相にプロトン性溶媒を添加することなく、試料を効率的にイオン化することができ、種々の試料について、高感度、高精度にエレクトロスプレーイオン化質量分

析を行うことができる。

### 図面の簡単な説明

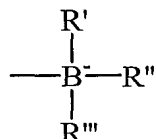
図 1 は、本発明の実施例 1 1 において実施した、エレクトロスプレーイオン化質量分析により得られた質量スペクトルを示す。

5 図 2 は、本発明の実施例 1 1 において実施した、プローブのみの場合のエレクトロスプレーイオン化質量分析により得られた質量スペクトルを示す。

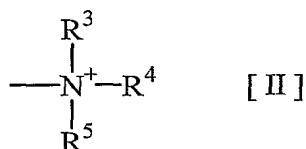
図 3 は、実施例 1 1 において実施した質量分析に用いた質量分析計の構成を模式的に示す図である。

### 発明を実施するための最良の形態

10 本発明の液状試料のイオン化質量分析用プローブは、上記一般式 [I] で表されるものである。一般式 [I] において、 $R^1$  は溶媒中でイオン化するイオン化基である。 $R^1$  は、使用する溶媒中でイオン化される基であればいずれの基であってもよく、正に帯電するものでも負に帯電するものでもよい。 $R^1$  の例として、アミン、カルボン酸若しくはその塩、スルホン酸若しくはその塩、

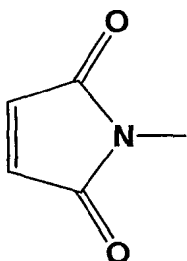
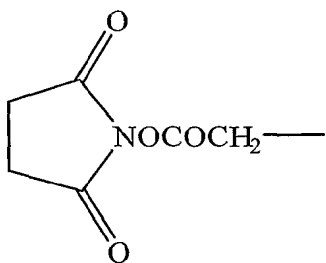


15 (但し、式中、 $R'$ 、 $R''$  及び  $R'''$  は同一又は異なる本発明の効果に悪影響を与えない任意の基、好ましくは、水素、ハロゲン、又は炭素数 1 ~ 20 の直鎖状若しくは分枝状アルキル基) 等を挙げることができるが、これらに限定されるものではない (なお、本明細書において、「ハロゲン」は、特に断りがない限りフッ素、塩素、臭素及びヨウ素のいずれであってもよい)。これらのうち、アミンが好ましく、とりわけ、下記一般式 [II] で表されるアミンが好ましい。

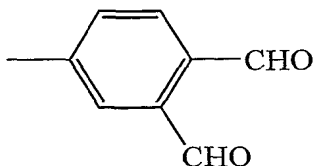
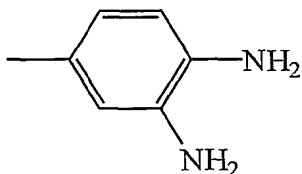


20 (但し、式中、 $R^3$ 、 $R^4$  及び  $R^5$  はそれぞれ独立に、本発明の効果に悪影響を与えない任意の基、好ましくは、水素、ハロゲン、又は炭素数 1 ~ 20 の直鎖状若しくは分枝状アルキル基)

上記一般式[1]中において、 $R^2$ は、他の物質と結合し得る構造を示す。 $R^2$ の好ましい一群の例として試料化合物中の官能基と反応して共有結合し得る官能基を挙げることができる。この場合、 $R^2$ としては、試料化合物中の官能基と反応して共有結合し得る官能基であれば、いかなる官能基であってもよい。液状で質量分析により分析される試料は、タンパク質や糖等の生体物質である場合が多いので、これらに含まれることが多い官能基、すなわち、 $-NH_2$ 基、 $-SH$ 基、 $-COOH$ 基、 $-OH$ 基、 $-CHO$ 基等と反応して共有結合する官能基が好ましい。このような官能基の例として、 $SCN-$ 、 $ClO_2S-$ 、



- 10  $BrH_2C-$ 、 $ClOC-$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-CH_2I$ 、 $-CH_2ONH_2$  ( $-HC$  l) (塩酸塩であってもなくてもよい)、



を挙げることができる。これらの官能基と反応する試料化合物中の官能基( $R'$ )

及び該反応の結果形成される結合を下記表 1 に示す（なお、 $R^2$  が  $-NH_2$  の場合は、表 1 に示される、試料化合物中の官能基 ( $R'$ ) が  $-NH_2$  の場合の  $R^2$  と表 1 に記載のように結合できる）。

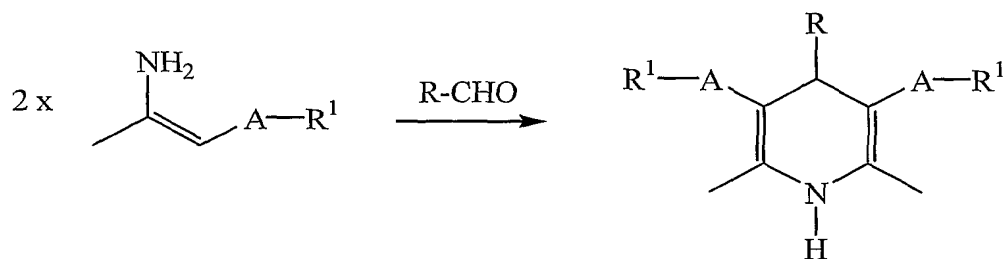
表 1

官能基(R <sup>2</sup> )	官能基(R')	結合形成状態
SCN—	—NH <sub>2</sub>	
ClO <sub>2</sub> S—	—NH <sub>2</sub>	
	—NH <sub>2</sub>	
	—SH	
BrH <sub>2</sub> C—	—COOH	
IH <sub>2</sub> C—	—COOH	
ClOC—	—OH	
	—CHO	
	—NH <sub>2</sub>	
—CH <sub>2</sub> ONH <sub>2</sub> (-HCl)		
—NHNH <sub>2</sub>	—CHO	

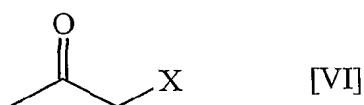
また、R<sup>2</sup>としては、CH<sub>3</sub>CH(NH<sub>2</sub>)=CH—も好ましく採用することができる。この場合、2分子のプロープがR—CHOで表される試料化合物と次



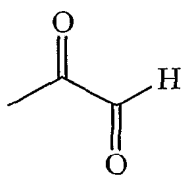
のように反応する。



好ましい $\text{R}^2$ として、さらに、一般式[VI]



(ただし、Xはハロゲンを示す)、



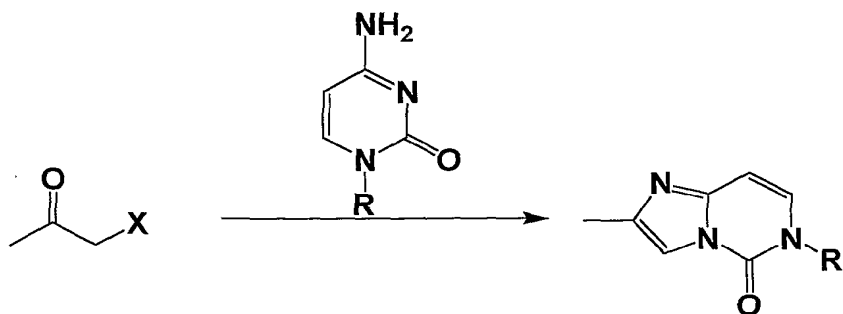
5 及び一般式[VII]



(ただし、nは1～5の整数を示す)

で表される基を挙げることができる。一般式[VI]中、ハロゲンとしては、好ましくは臭素である。

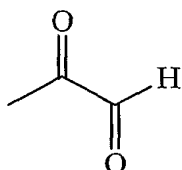
上記一般式[VI]で示される $\text{R}^2$ は、試料化合物中のシトシンと反応して次のように結合する。



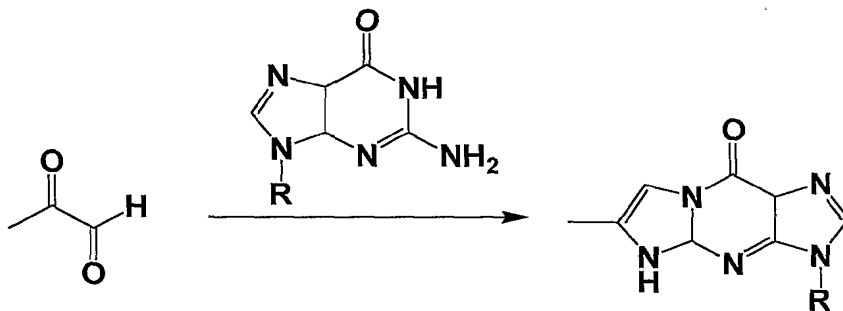
(ただし、式中、Rは、例えばヌクレオチドや核酸の糖部分のような任意の基を示す)

この $R^2$ は、試料化合物中のシトシン部分と結合することができるので、シチジナーリン酸、シチジンニリン酸、シチジン三リン酸、デオキシシチジナーリン酸、デオキシシチジンニリン酸及びデオキシシチジン三リン酸並びにシトシンを含むDNA及びRNAのような核酸と結合できる。

5  $R^2$ が上記



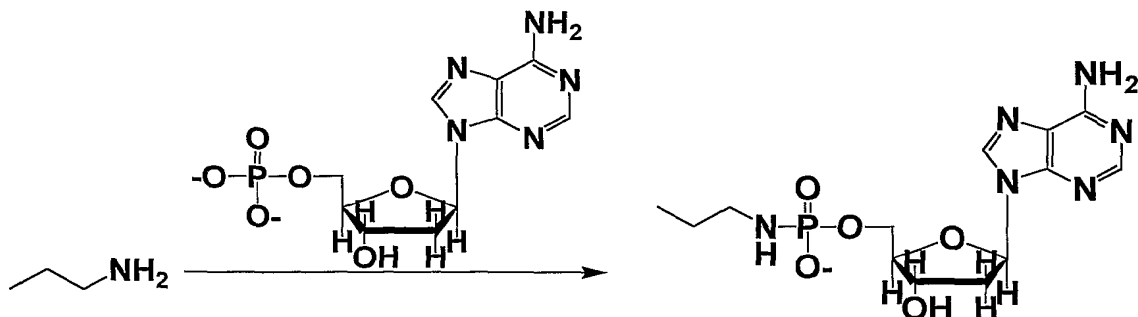
の場合は、試料化合物中のグアニンと反応して次のように結合する。



(ただし、式中、Rは、例えばヌクレオチドや核酸の糖部分のような任意の基を示す)

10 この $R^2$ は、試料化合物中のグアニン部分と結合することができるので、グアノシナーリン酸、グアノシンニリン酸、グアノシン三リン酸、デオキシグアノシナーリン酸、デオキシグアノシンニリン酸及びデオキシグアノシン三リン酸並びにグアニンを含むDNA及びRNAのような核酸と結合できる。

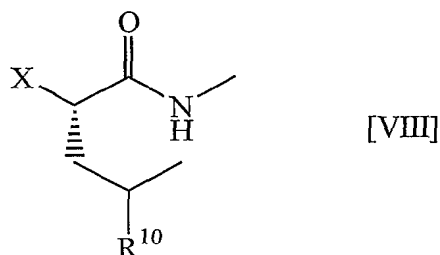
15  $R^2$ が上記一般式[VII]で示される基である場合は、試料化合物中のリン酸エステル部分と反応して次のように結合する(ただし、下記の例ではnが2の場合について示す)。



なお、この反応式では、試料化合物がデオキシアデノシンーリン酸（すなわち、ヌクレオチド中の塩基がアデニンで、糖がデオキシリボース）の場合を示しているが、 $R^2$ は、リン酸エステル部分と結合するので、塩基は、シトシン、グアニン、チミン又はウラシルのようなアデニン以外の他の塩基であってもよいし、糖はデオキシリボースでもリボースでもよい。また、リン酸エステルの数は、上記反応式では1個であるが、 $R^2$ は、末端のリン酸エステルと結合するので、縮合しているリン酸エステルの数は1個～3個のいずれであってもよい。従って、一般式[VII]で示される $R^2$ はあらゆる種類のヌクレオシドーリン酸、ヌクレオシドニリン酸及びヌクレオシド三リン酸と結合することが可能である。さらに、核酸の末端には遊離のリン酸エステルが存在するので、一般式[VII]で示される $R^2$ はDNAやRNAのような核酸と結合することも可能である。

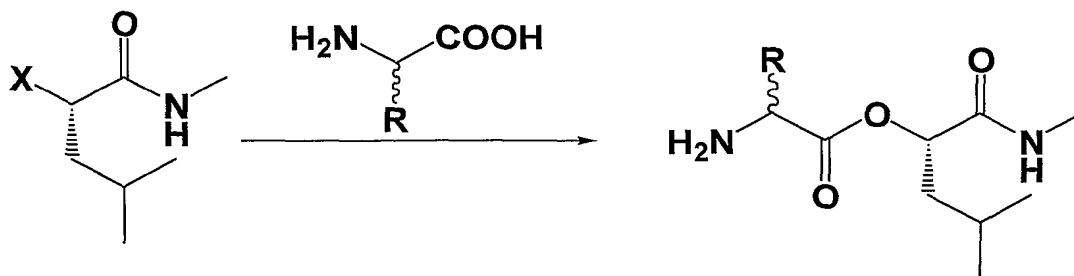
また、 $R^2$ が光学活性を有する基である場合には、光学活性を有する試料化合物と結合させることにより、特定の光学活性を有する試料化合物の測定が可能になり、また、試料化合物中の光学中心の絶対配置を決定することが可能になる。

光学活性を有する $R^2$ の好ましい例として、一般式[VIII]で表される基を挙げることができる。



（ただし、Xはハロゲン、 $R^{10}$ は炭素数1～5のアルキル基を示す）  
 ハロゲンとしては、特に臭素が好ましい。

一般式[VIII]で表される $R^2$ は、アミノ酸と反応して次のように結合する。

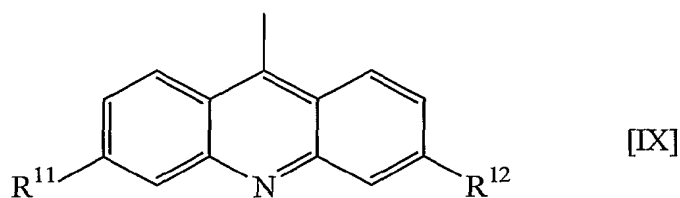


(ただし、式中、Rはアミノ酸の任意の側鎖を示す)

この場合、アミノ酸が、D体とL体の混合物（ラセミ体）であると、形成された結合物は互いにジアステレオマーの関係になる。この状態でLC/MS分析を行う  
 5 ことにより、単にESI等の質量分析法で高感度検出を行うことができるばかりでなくアミノ酸の絶対配置を決定することが可能となる。

なお、 $R^2$ は、試料化合物の官能基と反応して共有結合し得る官能基に限定されるものではなく、試料化合物とインターカレート又は配位結合により結合する  
 10 基や試料化合物を包接する環状構造を有する基も $R^2$ として好ましく用いることができる。

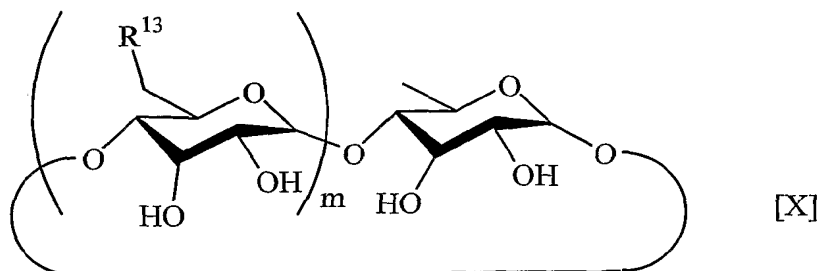
すなわち、 $R^2$ の好ましい例として、二本鎖核酸にインターカレートする構造を有するものを挙げることができる。このような $R^2$ の具体例として下記一般式  
 [IX]で表される基を挙げることができる。



15 (ただし、 $R^{11}$ 及び $R^{12}$ は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン、炭素数1～5のアルキル基又は炭素数1～5のN,N-ジアルキルアミノ基を示す)

このような $R^2$ は、二本鎖核酸にインターカレートして結合するので、このような $R^2$ を有するプローブは二本鎖核酸の測定に好ましく用いることができる。

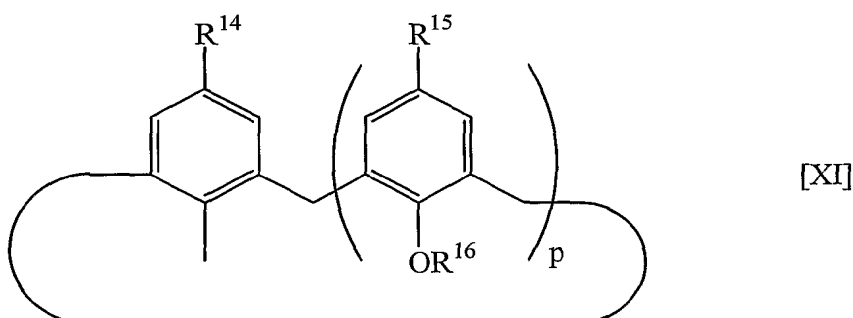
試料化合物を包接する環状構造を有する基としては、下記一般式[X]で示される  
 20 基を挙げることができる。



(ただし、 $R^{13}$ は水酸基、カルボキシ基又は炭素数1～5のアルキル基、 $m$ は5～9の整数を示す)

一般式[X]で示されるシクロデキストリン構造は、環状のオリゴ糖で、外側に水酸基を向け、内側に炭素鎖を向けた円錐台状の構造を有している。シクロデキストリンの空孔は疎水場であるため、疎水性相互作用を利用して、有機分子をその空孔内に包接することが出来る。この現象を利用して、微少量の様々な有機分子を含んでいる水を浄化し、その含まれている物質が何であるかを同定するために、上記 $R^2$ を有するプローブを利用することができる。該プローブを水試料に投与し、攪拌することにより、水試料中の有機分子はシクロデキストリンの空孔内に包接される。

試料化合物を包接する環状構造を有する基としては、さらに下記一般式[XI]で示される基を挙げることができる。



(ただし、 $R^{14}$ 及び $R^{15}$ はそれぞれ独立に水素、ハロゲン又は炭素数1～5のアルキル基、 $R^{16}$ は炭素数1～5のアルキル基、又は末端にカルボキシ基、エステル基若しくはアミド基を有する炭素数1～5のアルキル基、 $p$ は3～7の整数を示す)

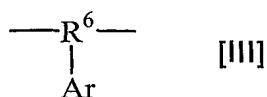
一般式[XI]で示されるカリックスアレーンは、ベンゼン環からなる環状のオリゴマーである。カリックスアレーンのベンゼン環で囲まれた空孔は疎水場である

ため、疎水性相互作用を利用して、有機分子をその空孔内に包接することが出来る。この現象を利用して、微量の様々な有機分子を含んでいる水を浄化し、その含まれている物質が何であるかを同定するために、上記 $R^2$ を有するプローブを利用することができる。該プローブを水試料に投与し、攪拌することにより、  
5 有機分子はカリックスアレーンの空孔内に包接される。

試料化合物を包接する環状構造を有する基は、上記のものに限定されるものではなく、例えば、クラウンエーテル等から水素原子が1個離脱した基等も用いることができる。

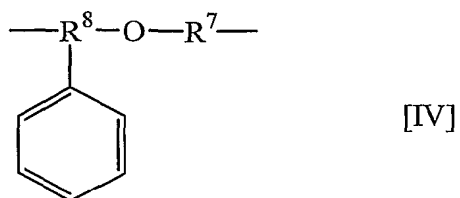
さらに、 $R^2$ としては、試料化合物と配位結合する、例えばEDTAのような錯体形成性化合物から水素原子が1個離脱した基等も用いることができる。  
10

一般式[I]中、Aは任意のスペーサー部である。本発明のプローブは、 $R^2$ により試料化合物と結合し、 $R^1$ によって結合後の化合物をイオン化するものであるから、 $R^1$ と $R^2$ の間に位置するAは、任意の構造をとり得るものである。も  
15 っとも、Aとして、疎水性部と親水性部を有するものを採用することにより、疎水性溶媒でも親水性溶媒でも用いることができ、汎用性が高まるので好ましい。疎水性部としては、ベンゼン環のような芳香環を挙げることができ、親水性部としては、エーテル、アミン、ケトンを含む構造を挙げることができる。このようなAの好ましい例として、下記一般式[III]で表されるものを挙げることができる。



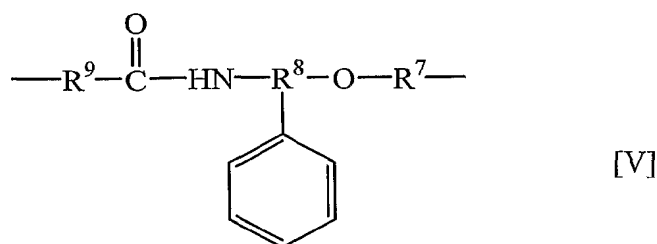
(式中、 $R^6$ は炭素数1~20のアルキレン基であり、その構成単位である  
20  $\text{---CH}_2\text{---}$ の1個以上かつ半数以下が $\text{---O---}$ 、 $\text{---CO---}$ 及び $\text{---NH---}$ から成る群より選ばれる1又は2以上の基であってもよく、1又は2以上の炭素数1~6のアルキル基で置換されていてもよく、Arは、1ないし5個の炭素数1~6のアルキル基で置換されていてもよい芳香環である)

さらに、一般式[III]で表されるAの好ましい例として、下記一般式[IV]



(但し、式中、 $R^7$ は存在してもしなくてもよく、存在する場合には炭素数1～6のアルキレン基を示し、 $R^8$ は、式中に示されるベンゼン環によって任意の水素が置換された炭素数1～6のアルキレン基を示す)

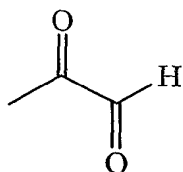
又は下記一般式[V]



- 5 (ただし、式中、 $R^7$ 及び $R^8$ は、式[IV]と同じ意味を示し、 $R^9$ は、存在してもしなくてもよく、存在する場合には炭素数1～6のアルキレン基を示す)で表されるものを挙げることができる。

また、Aとしては、上記一般式[V]において、 $R^9$ がフェニレン基であるものも好ましく用いることができる。このAは、特に $R^2$ が上記一般式[VI]で表される構造を有する場合及び

10

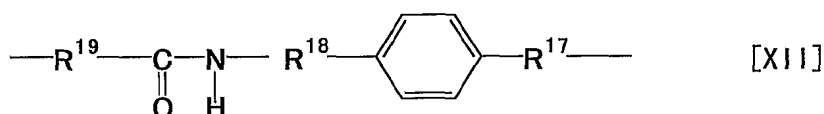


である場合に好ましく用いることができる。

また、Aとしては、 $\text{---R}^6\text{---}$  (ただし、 $R^6$ は、一般式[III]における $R^3$ と同じ意味を示す) であるものも好ましく用いることができる。このAは、特に $R^2$ が二本鎖核酸にインターカレートする構造を有する基 (例えば、上記一般式[IX]で表される基) であり試料化合物が二本鎖核酸である場合、及び $R^2$ が他の化合物を包接する環状構造を有する基 (例えば、上記一般式[X]又は[XI]で表される基) である場合に好ましく用いることができる。

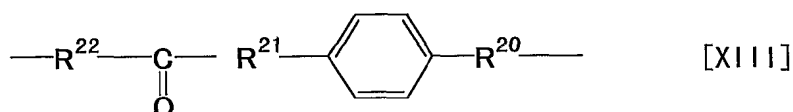
15

さらに、Aとしては、 $-R^6-A_r-R^{6'}$ （ただし、 $R^6$ 及び $A_r$ は一般式[III]における $R^6$ 及び $A_r$ とそれぞれ同じ意味を示し、 $R^{6'}$ は存在していてもなくてもよく、存在している場合には一般式[III]における $R^6$ と同じ意味を示す（ただし、式中の $R^6$ と $R^{6'}$ とは同一であっても異なってもよい））であるものも好ましく用いることができる。このようなAの好ましい例として、下記一般式[XII]



(ただし、 $R^{17}$ 及び $R^{18}$ は、互いに独立に炭素数1～6のアルキレン基を示し、 $R^{19}$ は存在していてもいなくてもよく、存在している場合には炭素数1～6のアルキレン基を示す)

又は下記一般式[XIII]



(ただし、 $R^{20}$ 及び $R^{21}$ は、互いに独立に炭素数1～6のアルキレン基を示し、 $R^{22}$ は存在していてもいなくてもよく、存在している場合には炭素数1～6のアルキレン基を示す)

で表されるものを挙げることができる。

Aの構造は任意のものでよいが、プローブ全体の分子量が余りに大きくなると、試料化合物-プローブ結合物における、プローブの占める割合が大きくなって分析の感度が低下するので、プローブの分子量は1000以下であることが好ましい。

本発明のプローブは、当業者が、公知の方法に基づいて容易に合成することができる。下記実施例にも、複数の好ましいプローブの製造方法が具体的に記載されている。

試料化合物と、プローブとの反応は、プローブの  $R^2$  と、試料化合物中の、 $R^2$  と結合させるべき官能基の種類に応じて、公知の技術に基づき適宜の条件で行うことができる。下記実施例にも、好ましいプローブと試料化合物との結合反応の条件が具体的に記載されている。



$R^2$  及び該  $R^2$  と結合する試料化合物中の官能基 ( $R'$ ) の上記した具体的な組合せのそれぞれについて、具体的な結合反応条件の例を以下に記載する。もっとも、これらは単なる例示であり、他の反応条件でもこれらの官能基同士を結合させることは可能であるので、結合反応条件が下記のものに限定されるものではないことは当業者にとって明らかである。また、ここに記載されていない  $R^2$  についても、当業者が化学常識に従って容易に結合反応を行うことができる。

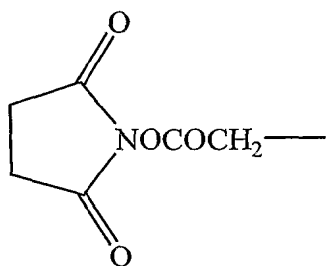
(1)  $R^2$  が  $SCN-$ 、 $R'$  が  $-NH_2$  の場合

2~3 mg の試料に 0.2 ml (エタノール : 水 : トリエチルアミン = 2 : 2 : 1 v/v) を加え減圧乾固した後、0.5 ml (エタノール : 水 : トリエチルアミン : プローブ = 7 : 7 : 1 : 1 v/v) を加え室温で 20 分間反応させる。溶媒を減圧留去した後、溶離液に溶解し試料溶液とする (B. A. Bidlingmeyer, et al, *J. Chromatogr.*, 336, 93 (1984) 参照)。

(2)  $R^2$  が  $ClO_2S-$  で、 $R'$  が  $-NH_2$  の場合

2~3 mg の試料に 500  $\mu$ L の 1M  $NaHCO_3$  水溶液と 200  $\mu$ L の 1 mg / mL プローブ / アセトン溶液を加え、60  $^{\circ}C$  で 30 分間加熱する。アセトンを留去後、溶離液に溶解し試料溶液とする (Meffin, P. J., et al, *J. Pharm. Sci.*, 66, 583 (1977) 参照)。

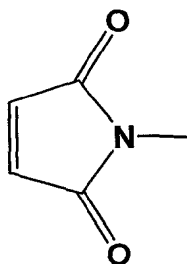
(3)  $R^2$  が



で、 $R'$  が  $-NH_2$  の場合

1.5 mg の試料を THF 5.0 mL に溶解し、50 mg のプローブを加え、60  $^{\circ}C$  で 30 分間加熱する。THF を留去後、溶離液に溶解し試料溶液とする (Jupill, T. H., *Am. Lab.*, 8 (5), 85-92 (1976) 参照)。

(4)  $R^2$  が



で、 $R'$  が  $-SH$  の場合

2~3 mg の試料を 500  $\mu$ L の水に溶解後、200  $\mu$ L の 1 mg / mL プローブ/アセトニトリル溶液を加え、60  $^{\circ}$ C で 30 分間加熱する。溶媒を留去後、溶離液に溶解し試料溶液とする (Nakashima K., et al, Talanta., 32, 167 (1985) 参照)。

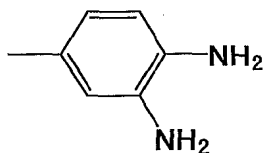
- 5 (5)  $R^2$  が  $BrH_2C-$  又は  $IH_2C-$  で、 $R'$  が  $-COOH$  の場合

2~3 mg の試料をアセトン 500  $\mu$ L に溶解し、200  $\mu$ L の 1 mg / mL プローブ/アセトン溶液および  $K_2CO_3$  1 mg を加え、60  $^{\circ}$ C で 30 分間加熱する。溶媒を留去後、溶離液に溶解し試料溶液とする (Dunges, W., Anal. Chem., 49, 442 (1977) 参照)。

- 10 (6)  $R^2$  が  $ClOC-$  で、 $R'$  が  $-OH$  の場合

2~3 mg の試料を 0.5 ml のピリジンに溶解後、0.2 mL の 1 mg / mL プローブ/ピリジン溶液を加え、40  $^{\circ}$ C で 1 時間加熱する。溶媒を留去後、溶離液に溶解し試料溶液とする (Suzuki, A., et al., J. Biochem., 82, 1185 (1977) 参照)。

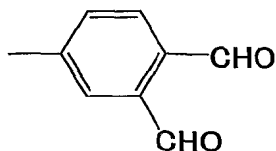
- (7)  $R^2$  が



- 15 で、 $R'$  が  $-CHO$  の場合

2~3 mg の試料をメタノール 1.0 ml、酢酸 0.1 ml、0.2 mL の 1 mg / mL プローブ/メタノール溶液を加え、40  $^{\circ}$ C で 30 分間加熱する。溶媒を留去後、溶離液に溶解し試料溶液とする。

- (8)  $R^2$  が



で、 $R'$  が  $-NH_2$  の場合

試料のエタノール溶液 ( $10^{-4} \sim 10^{-3}$  M) 0.1 mL に、10 mg / mL のプローブ / エタノール溶液 1.5 mL を加え、室温で 5 分間～10 分間攪拌する。溶媒を減圧留去後、溶離液に溶解し試料溶液とする (Roth, M., Anal. Chem., 43, 880 (1971) 参照)。

(9)  $R^2$  が  $-CH_2ONH_2 \cdot HCl$  で  $R'$  が



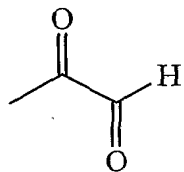
の場合

1～5 mg の試料、トリエチルアミン 2 滴、プローブ 50 mg を 50 °C で 30 分間加熱する。溶媒を減圧留去後、溶離液に溶解し試料溶液とする (Jupille, T. H., Am. Lab., 8 (5), 85-92 (1976) 参照)。

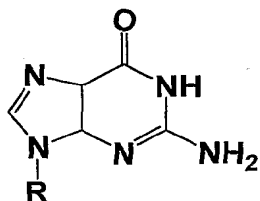
(10)  $R^2$  が  $-NHNH_2$ 、 $R'$  が  $-CHO$  の場合

1～5 mg の試料を水 0.5 ml に溶解後、30%  $HClO_4$  水溶液に 20mg/mL の割合でプローブを溶かした溶液を加え、室温で 10 分間攪拌した。溶媒を減圧留去後、溶離液に溶解し試料溶液とする (Newberg, C., et al., Anal. Chim. Acta, 7, 238 (1952) 参照)。

(11)  $R^2$  が



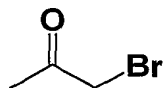
で、 $R'$  が



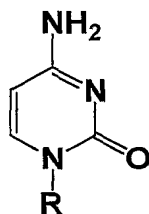
の場合

0.1~5.0  $\mu\text{g}$  の試料を、50 $\mu\text{L}$  のリン酸緩衝溶液 (pH7.0) に溶解後、200 $\mu\text{L}$  の 1mg / mL のプローブ/リン酸緩衝溶液 (pH7.0) を加え、室温で 5 分間攪拌する。溶媒を減圧留去後、溶離液に溶解し試料溶液とする。

(12)  $\text{R}^2$  が



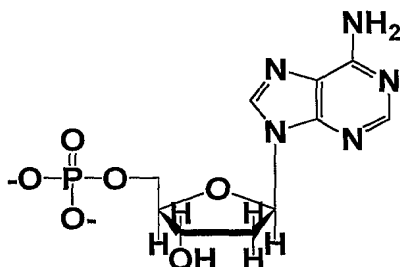
で、 $\text{R}'$  が



の場合

0.1~5.0  $\mu\text{g}$  の試料を、50 $\mu\text{L}$  のリン酸緩衝溶液 (pH7.0) に溶解後、200 $\mu\text{L}$  の 1mg / mL のプローブ/リン酸緩衝溶液 (pH7.0) を加え、室温で 5 分間攪拌する。溶媒を減圧留去後、溶離液に溶解し試料溶液とする。

(13)  $\text{R}^2$  が  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$  で、 $\text{R}'$  が



の場合

0.1~5.0  $\mu\text{g}$  の試料を、50 $\mu\text{L}$  のリン酸緩衝溶液 (pH7.0) に溶解後、200 $\mu\text{L}$  の 1mg / mL のプローブ/リン酸緩衝溶液 (pH7.0) および 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドを加え、室温で 30 分間攪拌する。溶媒を減圧留去後、溶離液に溶解し試料溶液とする。

本発明のプローブを用いた液状試料の質量分析は、試料化合物と本発明のプローブを反応、結合させた後、通常の液状試料の質量分析と全く同様にして行うことができる。本発明のプローブは、試料のイオン化を伴う、あらゆる液状試料の質量分析方法に適用可能である。好ましい液状試料の質量分析方法の例として、

エレクトロスプレーイオン化質量分析、大気圧化学イオン化質量分析、サーモスプレーイオン化質量分析、パーティクルビーム質量分析、フリット高速原子衝撃質量分析等を挙げることができるが、これらに限定されるものではない。また、通常

5 通常の質量分析のみならず、反応槽と一体化された分析装置中で行われる質量分析に適用することも可能である。例えば、ポストカラム反応方式の高速液体クロマトグラフィ装置や、フローインジェクション分析装置のように、分析装置に反

10 応槽又は反応コイルが組み込まれた分析装置において、反応槽又は反応コイルの下流で行われる質量分析に本発明のプローブを適用することができる。この場合、プローブは、反応槽又は反応コイルの上流で試料と混合し、結合反応を反応槽又は

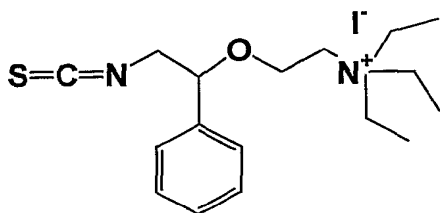
15 反応コイル中で行うことができる。なお、質量分析自体は、市販の装置を用い、装置に添付された指示書に従って容易に行うことができる。

なお、「液状試料」とは、分析対象である試料化合物が液状である場合の試料化合物、及び試料化合物が固体である場合の該試料化合物の溶液の両者を包含する。

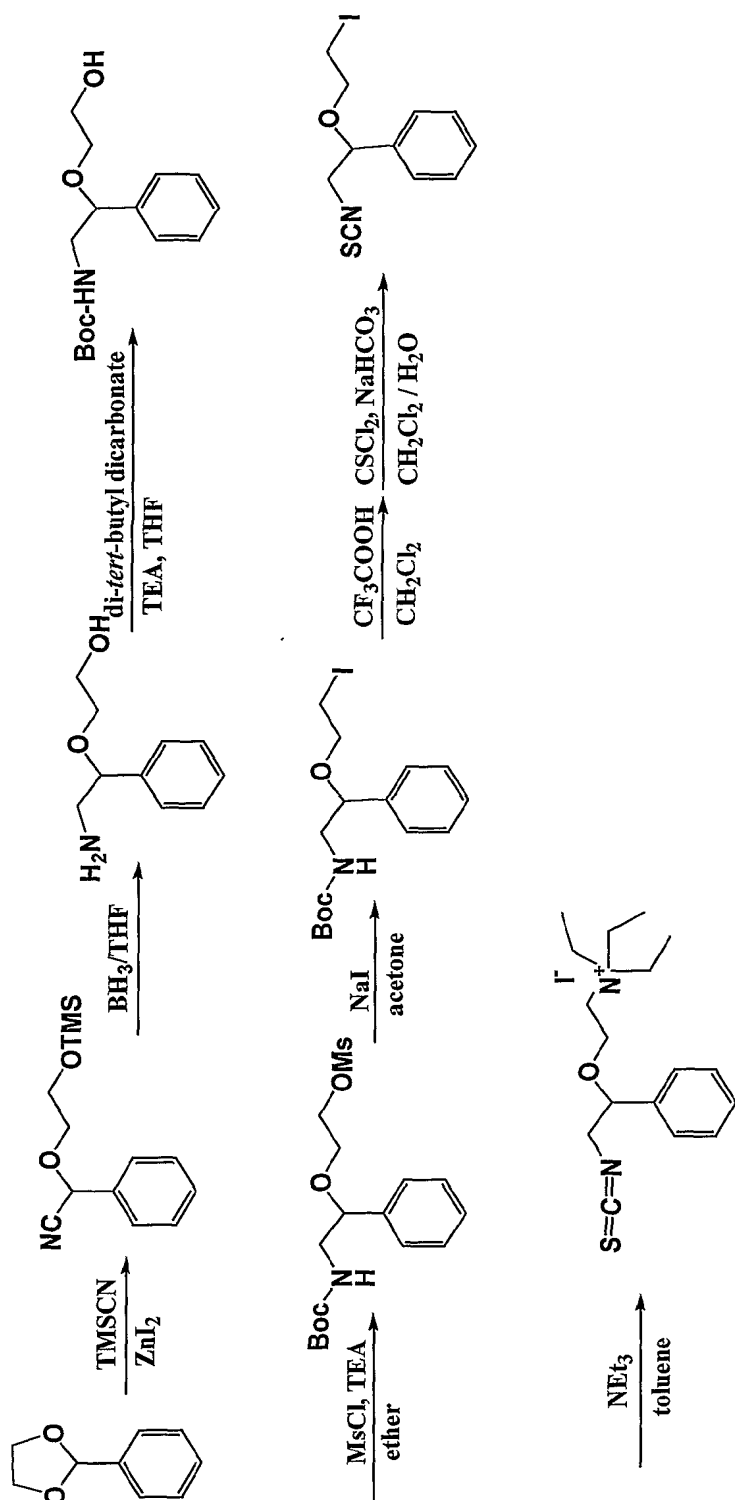
15 本発明のプローブを用いた場合には、試料化合物がプローブと結合することによって確実にイオン化されており、結合後のプローブ由来部分の質量も既知であるから、通常の質量分析により高感度、高精度に定量することができる。なお、観察されたピーク値( $m/z$ 値)からプローブの分子量を差し引くことにより試料化合物の分子量を算出することができる。

20 以下、本発明を実施例に基づきより具体的に説明する。もっとも、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

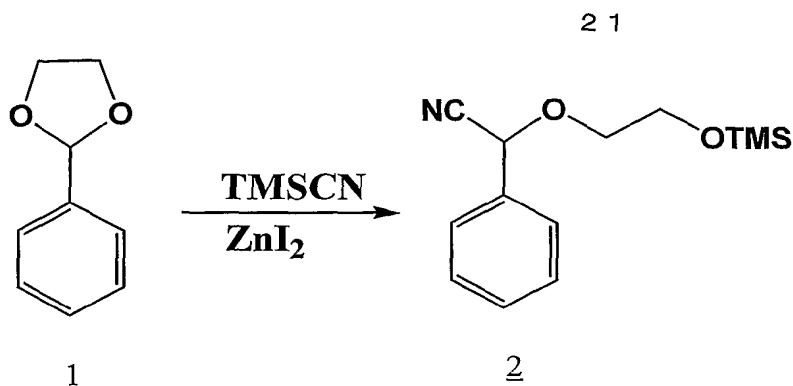
#### 実施例1 プローブの合成(その1)



下記のスキームに従い、 $R^1$ として第四級アミン、 $R^2$ としてSCN-を有する上記化合物を合成した。



(1) 2-(2-(2-(2-(2-フェニルエタンニトリル)2-フェニルエタンニトリル)2-フェニルエタンニトリル)2-フェニルエタンニトリル)2-フェニルエタンニトリルの合成



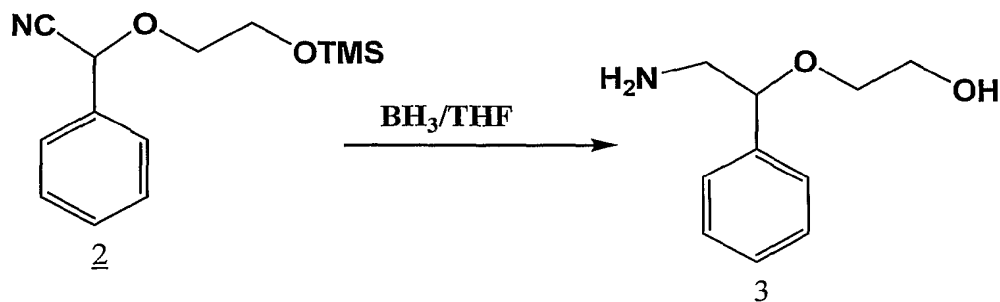
50 mlニ口フラスコに2-フェニル-1,3-ジオキソラン(化合物1) 3.0 g (19.9 mmol)、トリメチルシリルシアノイド(TMSCN) 2.1 ml (21.4 mmol)、ZnI<sub>2</sub> 0.3 g (0.94 mmol)を加え、窒素気流下、室温で2時間攪拌した。TLC (SiO<sub>2</sub>; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : *n*-ヘキサン = 1 : 4 v/v)で原料消失を確認後、ジエチルエーテル100 mlを加え水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧留去し無色オイル状化合物を得た。同定は<sup>1</sup>H-NMR、ESI-TOF質量分析を用いて行った。

収率 93 %

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ / ppm) 0.12 (s, 9H, Si (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.65 ~ 3.84 (m, 4H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 5.42 (s, 1H, Ar-CH), 7.40~7.58 (m, 5H, ArH)

ESI-TOF [M + Na]<sup>+</sup> = 272

(2) 2-(2-アミノ-1-フェニルエトキシ)エタン-1-オール合成



100 mlニ口フラスコに化合物2 2.0 g (8.0 mmol)を加え脱気窒素置換後、氷浴下1 M BH<sub>3</sub>・THF溶液50 mlを30分間かけて滴下した。室温で4時間攪拌後、TLC (SiO<sub>2</sub>; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 4 : 1 v/v)で原料消失を確認した。氷浴下、6 N HClを加え酸性にした後、溶媒の大部分を減圧留去した。NaOH水溶液を加えpH 10にした後、酢酸エチル100 mlで3回抽出し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去後、無色オイル状化合物を得た。同定は<sup>1</sup>H-NMR、ESI-TOF質量分

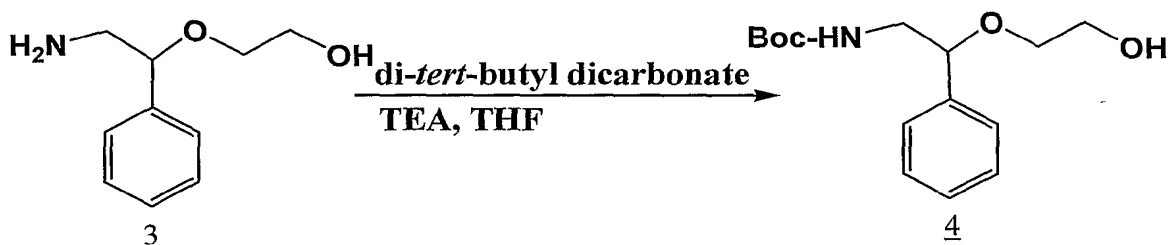
析を用いて行った。

収率 90 %

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS, r. t.,  $\delta$  / ppm) 2.55 (br s, 3H), 2.83 (dd, 1H), 3.15 (dd, 1H), 3.39~3.62 (m, 2H), 3.68~3.78 (m, 2H), 5.00 (dd, 1H),  
 5 7.40 7.58 (m, 5H)

ESI-TOF  $[\text{M}]^+ = 181$

(3) (*tert*-ブトキシ)-N-(2-(2-ヒドロキシエトキシ)-2-フェニルエチル) フォルムアミドの合成



30 mlニ口フラスコに化合物3 0.50 g (2.76 mmol)を加え脱気窒素置換後、THF  
 10 15 ml、トリエチルアミン 0.28 ml (2.76 mmol)、ジ-*tert*-ブチルジカーボネート0.60 g (2.76 mmol)を加え、室温で攪拌した。2時間後、TLC ( $\text{SiO}_2$ ; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1)で原料消失を確認後、溶媒を減圧留去した。カラムクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ ; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1)で精製し、無色オイル状化合物を得た。同定は $^1\text{H-NMR}$ 、ESI-TOF質量分析を用いて行った。

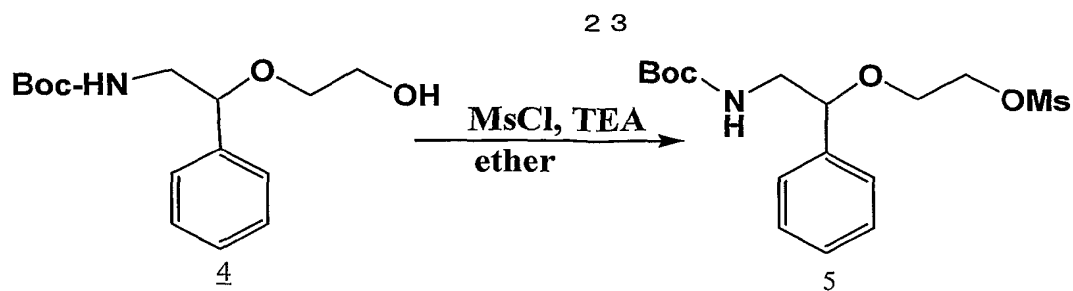
15 収率 90 %

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS, r. t.,  $\delta$  / ppm) 1.37 (s, 9H), 3.10 (s, 3H), 3.51 ~3.64 (m, 4H), 4.33~4.37 (m, 2H), 4.98 (br s, 1H), 5.01 (dd, 1H),  
 7.41~7.58 (m, 5H)

ESI-TOF  $[\text{M} + \text{Na}]^+ = 304$

20 (4) (*tert*-ブトキシ)-N-(2-(2-(メチルスルフォニロキシ)エトキシ)-2-フェニルエチル) フォルムアミドの合成





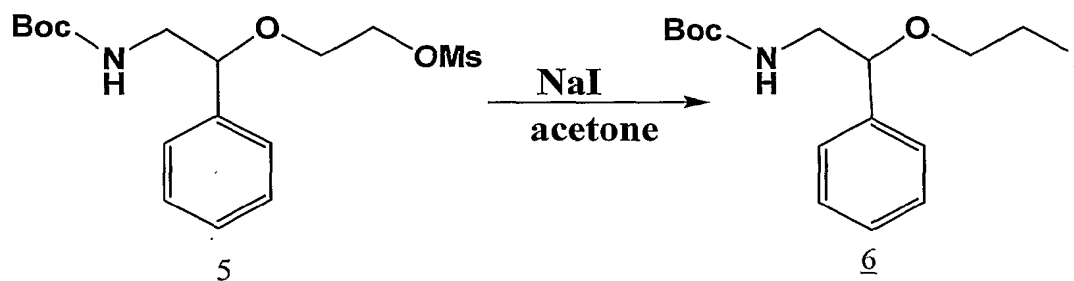
30 ml ニロフラスコに化合物 4 0.50 g (1.78 mmol) を加え脱気窒素置換後、ジエチルエーテル 10.0 ml、トリエチルアミン 0.23 g (2.31 mmol) を加えた。氷浴下、メタンスルホニルクロリド 0.22 g (1.96 mmol) を加えた後、室温で攪拌した。一時間後、TLC (SiO<sub>2</sub>; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 2 : 1) で原料消失を確認した。溶媒を減圧留去後、カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 2 : 1) で精製し、白色固体を得た。同定は <sup>1</sup>H-NMR、ESI-TOF 質量分析を用いて行った。

収率 88 %

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r.t., δ / ppm) 1.37 (s, 9H), 3.10 (s, 3H), 3.51 ~ 3.64 (m, 4H), 4.33 ~ 4.37 (m, 2H), 4.98 (br s, 1H), 5.01 (dd, 1H), 7.40 ~ 7.58 (m, 5H)

ESI-TOF [M + Na]<sup>+</sup> = 382

(5) (*tert*-ブトキシ)-N-(2-(2-ヨードエトキシ)-2-フェニルエチル) フォルムアミドの合成



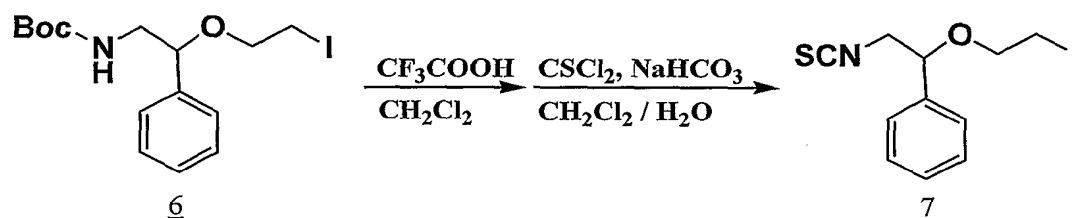
30 ml ニロフラスコに化合物 5 0.50 g (1.39 mmol) を加え脱気窒素置換後、アセトン 10.0 ml、ヨウ化ナトリウム 1.10 g (7.25 mmol) を加え還流した。2時間後、TLC (SiO<sub>2</sub>; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1) で原料消失を確認後、溶媒を減圧留去した。カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 10 : 1) で精製後、赤色固体を得た。同定は <sup>1</sup>H-NMR、ESI-TOF 質量分析を用いて行った。

収率 85 %

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS, r. t.,  $\delta$  / ppm) 1.35 (s, 9H), 3.22 (t, 2H), 3.38 ~ 3.66 (m, 4H), 5.02 (br s, 1H), 5.06 (dd, 1H), 7.41 ~ 7.58 (m, 5H)

ESI-TOF  $[\text{M} + \text{Na}]^+ = 414$

5 (6) 2-(2-ヨードエトキシ)-2-フェニルエタンイソチオシアネートの合成



10 ml ニロフラスコに化合物 6 0.20 g (0.51 mmol) を加え脱気窒素置換後、塩化メチレン 2.0 ml、トリフルオロ酢酸 0.5 ml を加え室温で攪拌した。30 分後、TLC ( $\text{SiO}_2$ ;  $n$ -ヘキサン : 酢酸エチル = 4 : 1) で原料消失を確認し、溶媒を減圧留去した。得られた化合物に塩化メチレン : 水 = 1 : 1 v/v の混合溶媒 5.0 ml を加えた後、炭酸水素ナトリウム 0.30 g、チオホスゲン 80.0  $\mu\text{l}$  を加え、室温で攪拌した。1 時間後、TLC ( $\text{SiO}_2$ ;  $n$ -ヘキサン : 酢酸エチル = 4 : 1) で原料消失を確認し、塩化メチレン 50 ml で 3 回抽出後、有機相を無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去後、黄橙色オイル状化合物を得た。同定は  $^1\text{H-NMR}$ 、ESI-TOF 質量分析を用いて行った。

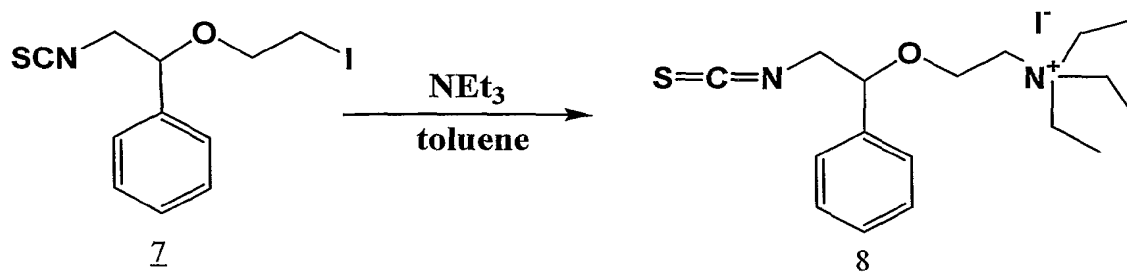
15 収率 80 %

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS, r. t.,  $\delta$  / ppm) 3.26 ~ 3.33 (m, 2H), 3.36 ~ 3.79 (m, 2H), 3.80 (dd, 1H), 3.95 (dd, 1H), 5.24 (dd, 1H), 7.40 ~ 7.58 (m, 5H)

ESI-TOF  $[\text{M} + \text{Na}]^+ = 355$

20 (7) 2-(2-(トリエチルアミノ)エトキシ)-2-フェニルエタンイソチオシアネート

ヨードライドの合成



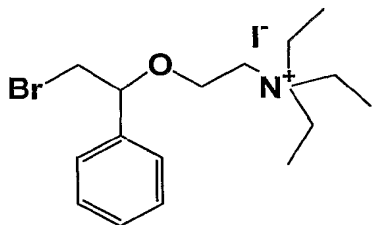
30 ml なす型フラスコに化合物7 0.20 g (0.60 mmol)、トルエン5.0 ml、トリエチルアミン1.0 mlを加え、室温で攪拌した。24時間後、TLC (SiO<sub>2</sub>; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 4 : 1) で原料消失を確認し、析出した沈殿を分取後、トルエンで洗浄し、黄白色固体を得た。同定は<sup>1</sup>H-NMR、ESI-TOF質量分析を用いて行った。

収率 92 %

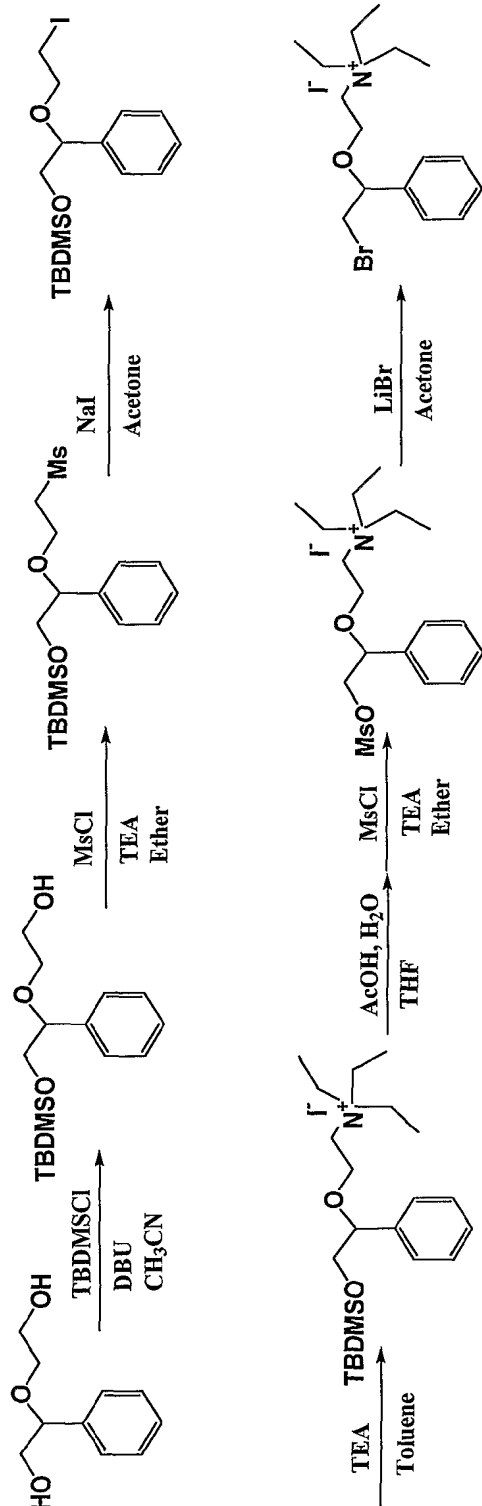
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, TMS, r. t., δ / ppm) 1.30 (t, 9H), 3.04 (q, 6H), 3.75~3.95 (m, 3H), 4.11 (dd, 1H), 4.10 ~ 4.16 (m, 1H), 4.33 (dd, 1H), 5.54 (dd, 1H), 7.40~7.58 (m, 5H)

ESI-TOF [M]<sup>+</sup> = 307

## 実施例2 プローブの合成(その2)

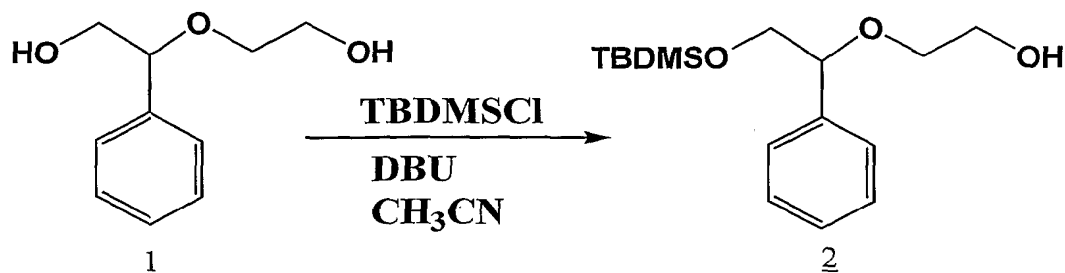


下記のスキームに従い、R<sup>1</sup>として第四級アミン、R<sup>2</sup>としてBrH<sub>2</sub>C-を有する上記化合物を合成した。



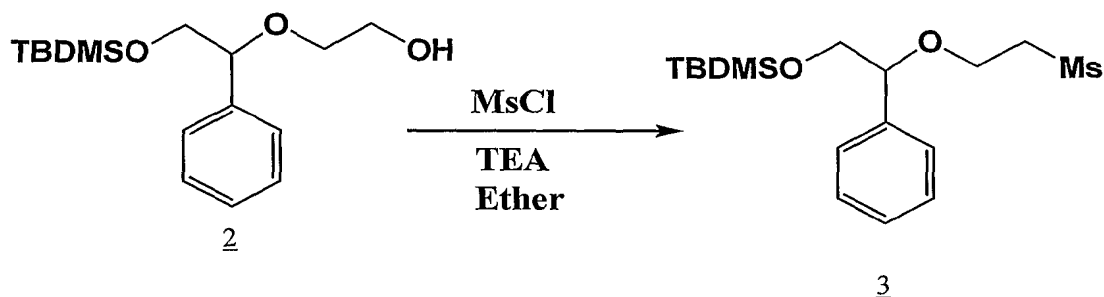
(1) 2-(3, 3, 4, 4-テトラメチル-1-フェニル-3-シラペンチルオキシ)エタン-1-  
 オールの合成

27



50 ml ニ口フラスコに 2-(2-ヒドロキシエトキシ)-2-フェニルエタン-1-オール (化合物 1) 3.0 g (16.5 mmol)、*t*-ブチルジメチルシリルクロリド (TBDMSCl) 2.48 g (16.5 mmol)、1,8-ジアザビシクロ[5,4,0]-7-ウンデセン (DBU) 2.51 ml (16.5 mmol) を加え、窒素気流下、室温で 24 時間撹拌した。TLC で原料消失を確認後、溶媒を減圧留去し、得られた化合物を塩化メチレンに溶解した。水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、目的化合物を得た。

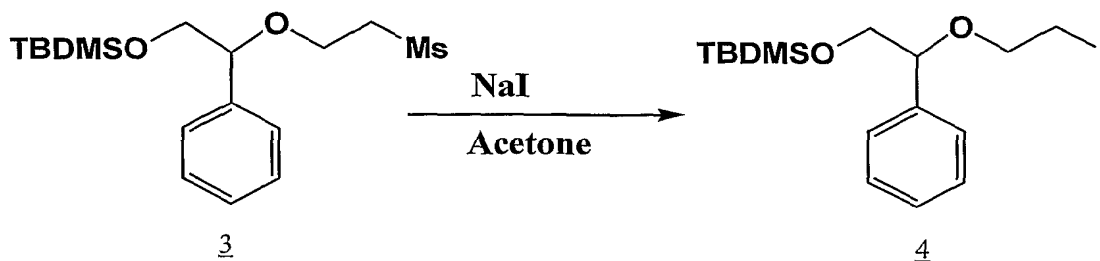
(2) (メチルスルホニル)オキシ(2-(3,3,4,4-テトラメチル-1-フェニル-3-シラペンチルオキシ)エタンの合成



100 ml ニ口フラスコに化合物 2 2.0 g (6.75 mmol) を加え脱気窒素置換後、ジエチルエーテル 20.0 ml、トリエチルアミン 0.68 g (6.75 mmol)、メタンスルホニルクロリド 0.77 g (6.75 mmol) を加え、室温で 2 時間撹拌した。水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、目的化合物を得た。

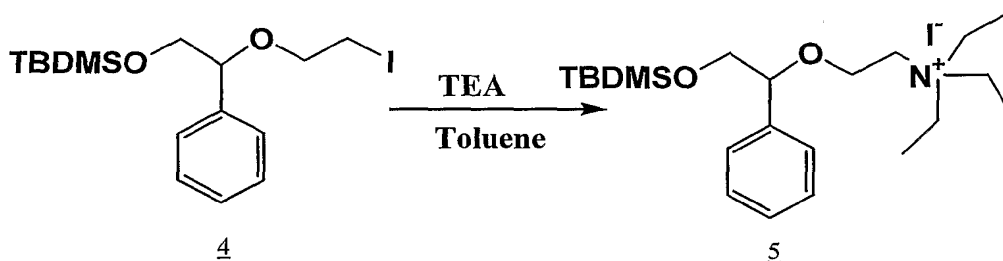
(3) 2-ヨード-1-(3,3,4,4-テトラメチル-1-フェニル-3-シラペンチルオキシ)エタンの合成

28



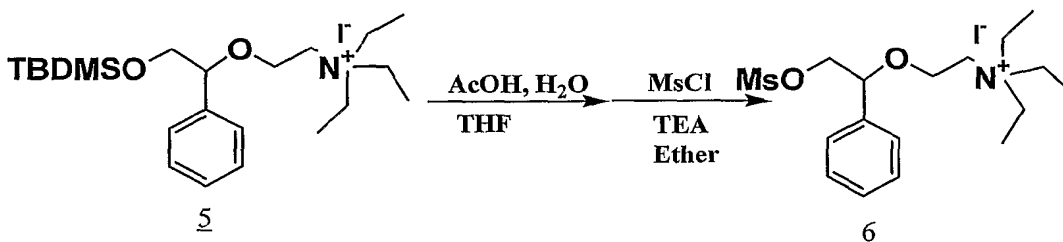
30 ml ニ口フラスコに化合物 3 0.50 g (1.25 mmol) を加え脱気窒素置換後、アセトン 15 ml、ヨウ化ナトリウム 1.49 g (10.0 mmol) を加え、2 時間還流した。溶媒を減圧留去後、水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、目的化合物を得た。

- 5 (4) トリエチル(2-(3,3,4,4-テトラメチル-1-フェニル-3-シラペンチルオキシ)エチル)アミンの合成



30 ml なす型フラスコに化合物 4 0.50 g (1.25 mmol)、トルエン 10.0 ml、トリエチルアミン 1.0 ml を加え、室温で 24 時間撹拌した。析出した沈殿を分取後、トルエンで洗浄した。減圧乾燥後、目的化合物を得た。

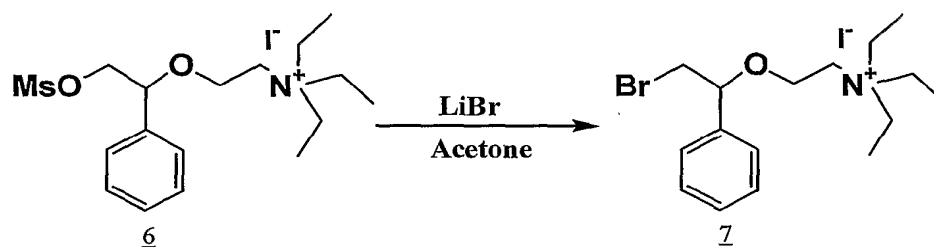
- 10 (5) 1-(メチルスルホニル)-2-フェニル-2-(2-(トリエチルアミノ)エトキシ)エタンの合成



30 ml ニ口フラスコに化合物 5 0.50 g (1.37 mmol)、酢酸 : 水 : THF = 3 : 1 : 1 v/v の混合溶媒 10.0 ml を加え室温で 2 時間撹拌した。溶媒を減圧留去後、ポンプで減圧乾燥した。得られた化合物に、ジエチルエーテル 100 ml、トリエチルアミン、メタンサルホニルクロリドを加え、室温で 2 時間撹拌した。水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去後、シリカゲルカ

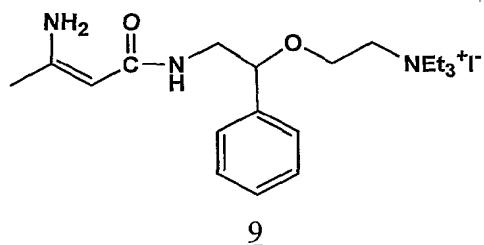
ラムクロマトグラフィーで精製し、目的化合物を得た。

(6) (2-(2-ヨード-1-フェニルエトキシ)エチル)トリエチルアミンの合成

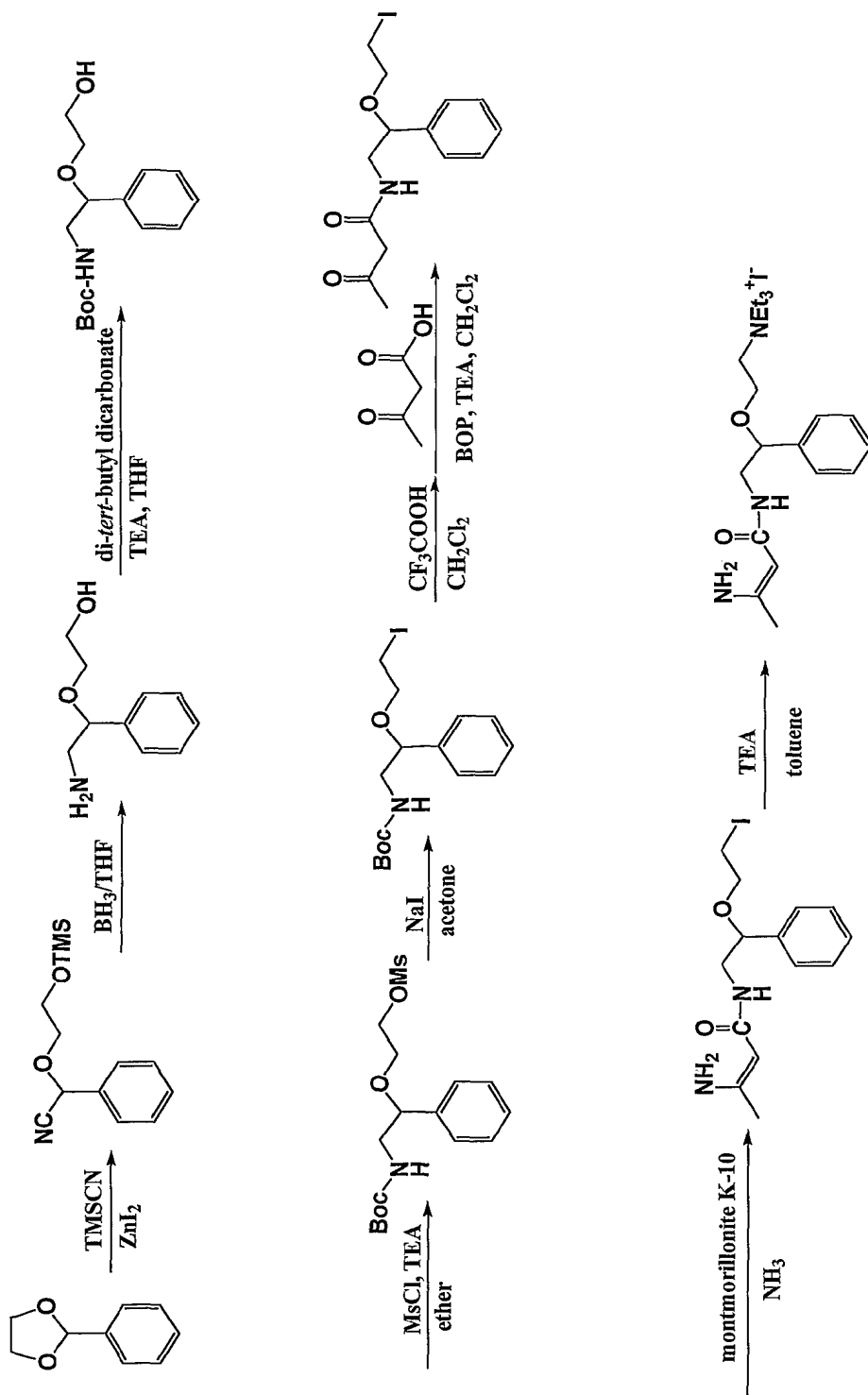


50 ml なす型フラスコに化合物6 0.20 g (0.58 mmol)、アセトン20.0 ml、臭化リチウム0.43 g (5.0 mmol)を加え2時間還流した。溶媒を減圧留去後、エタノールを加えた。不溶物を濾別後、濾液を減圧濃縮し、目的化合物を得た。

実施例3 プローブの合成(その3)



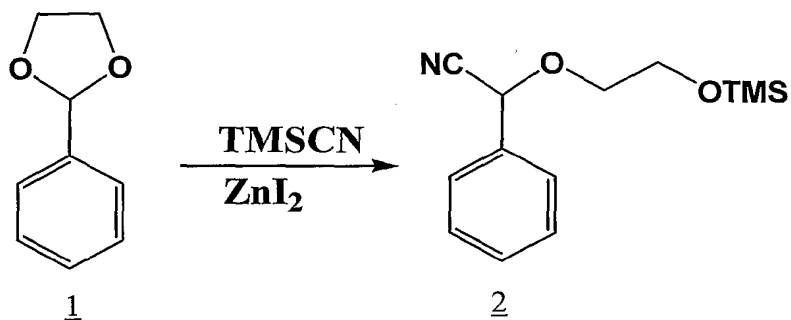
下記のスキームに従い、 $R^1$ として第四級アミン、 $R^2$ として $NH_2$ -を有する上記化合物を合成した。



(1) 2-(2-トリメチルシロキシエトキシ)-2-フェニルエタンニトリルの合成



31



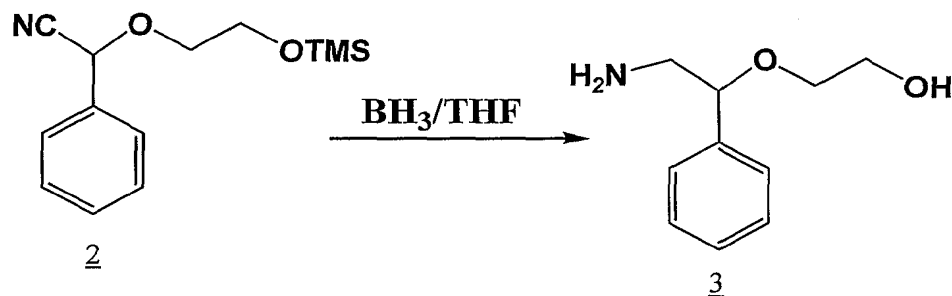
50 mlニ口フラスコに2-フェニル-1,3-ジオキソラン(化合物1) 3.0 g (19.9 mmol)、TMS-CN 2.1 ml (21.4 mmol)、ZnI<sub>2</sub> 0.3 g (0.94 mmol)を加え、窒素気流下、室温で2時間攪拌した。TLC (SiO<sub>2</sub>; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : *n*-ヘキサン = 1 : 4 v/v)で原料消失を確認後、ジエチルエーテル100 mlを加え水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧留去し無色オイル状化合物を得た。同定は<sup>1</sup>H-NMR、ESI-TOF質量分析を用いて行った。

収率 93 %

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r.t., δ / ppm) 0.12 (s, 9H, Si (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.65~3.84 (m, 4H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 5.42 (s, 1H, Ar-CH), 7.40~7.58 (m, 5H, Ar H)

ESI-TOF [M + Na]<sup>+</sup> = 272

(2) 2-(2-アミノ-1-フェニルエトキシ)エタン-1-オール合成



100 mlニ口フラスコに化合物2 2.0 g (8.0 mmol)を加え脱気窒素置換後、氷浴下1 M BH<sub>3</sub>・THF溶液50 mlを30分間かけて滴下した。室温で4時間攪拌後、TLC (SiO<sub>2</sub>; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 4 : 1 v/v)で原料消失を確認した。氷浴下、6 N HClを加え酸性にした後、溶媒の大部分を減圧留去した。NaOH水溶液を加えpH 10にした後、酢酸エチル100 mlで3回抽出し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去後、無色オイル状化合物を得た。同定は<sup>1</sup>H-NMR、ESI-TOF

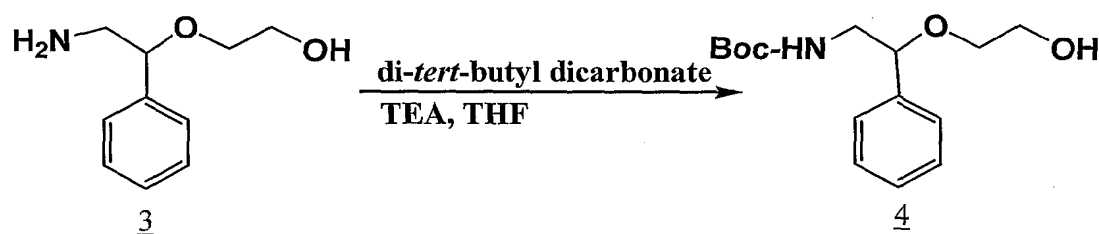
質量分析を用いて行った。

収率 90 %

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS, r.t.,  $\delta$  / ppm) 2.55 (br s, 3H), 2.83 (dd, 1H), 3.15 (dd, 1H), 3.39 ~ 3.62 (m, 2H), 3.68 ~ 3.78 (m, 2H), 5.00 (dd, 1H), 7.40 ~ 7.58 (m, 5H)

ESI-TOF  $[\text{M}]^+ = 181$

(3) (*tert*-ブトキシ)-N-(2-(2-ヒドロキシエトキシ)-2-フェニルエチル) フォルムアミドの合成



30 ml ニ口フラスコに化合物3 0.50 g (2.76 mmol) を加え脱気窒素置換後、THF 15 ml、トリエチルアミン 0.28 ml (2.76 mmol)、ジ-*tert*-ブチルジカーボネート 0.60 g (2.76 mmol) を加え、室温で攪拌した。2時間後、TLC ( $\text{SiO}_2$ ; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1) で原料消失を確認後、溶媒を減圧留去した。カラムクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ ; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1) で精製し、無色オイル状化合物を得た。同定は $^1\text{H-NMR}$ 、ESI-TOF質量分析を用いて行った。

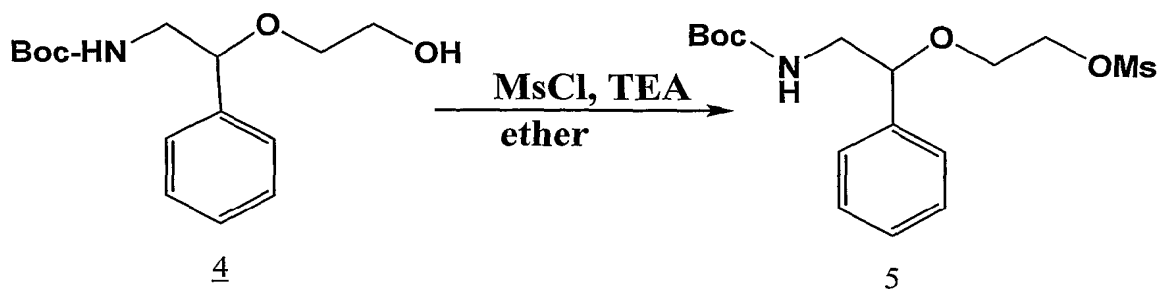
収率 90 %

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS, r.t.,  $\delta$  / ppm) 1.37 (s, 9H), 3.10 (s, 3H), 3.51 ~ 3.64 (m, 4H), 4.33 ~ 4.37 (m, 2H), 4.98 (br s, 1H), 5.01 (dd, 1H), 7.41 ~ 7.58 (m, 5H)

ESI-TOF  $[\text{M} + \text{Na}]^+ = 304$

(4) (*tert*-ブトキシ)-N-(2-(2-(メチルスルフォニロキシ)エトキシ)-2-フェニルエチル) フォルムアミドの合成

33



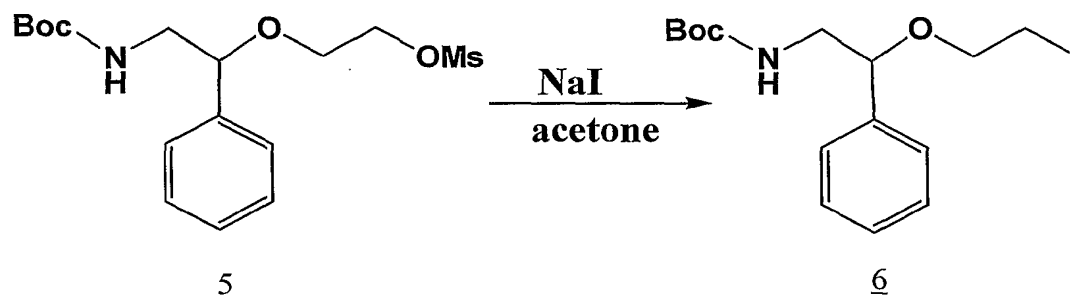
30 mlニ口フラスコに化合物4 0.50 g (1.78 mmol)を加え脱気窒素置換後、ジエチルエーテル10.0 ml、トリエチルアミン0.23 g (2.31 mmol)を加えた。氷浴下、メタンスルホニルクロリド(MsCl)0.22 g (1.96 mmol)を加えた後、室温で攪拌した。一時間後、TLC (SiO<sub>2</sub>; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 2 : 1) で原料消失を確認した。溶媒を減圧留去後、カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 2 : 1) で精製し、白色固体を得た。同定は<sup>1</sup>H-NMR、ESI-TOF質量分析を用いて行った。

収率 88 %

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ / ppm) 1.37 (s, 9H), 3.10 (s, 3H), 3.51~3.64 (m, 4H), 4.33 ~ 4.37 (m, 2H), 4.98 (br s, 1H), 5.01 (dd, 1H), 7.40~7.58 (m, 5H)

ESI-TOF [M + Na]<sup>+</sup> = 382

(5) (*tert*-ブトキシ)-N-(2-(2-ヨードエトキシ)-2-フェニルエチル) フォルムアミドの合成



30 mlニ口フラスコに化合物5 0.50 g (1.39 mmol)を加え脱気窒素置換後、アセトン10.0 ml、ヨウ化ナトリウム1.10 g (7.25 mmol)を加え還流した。2時間後、TLC (SiO<sub>2</sub>; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1) で原料消失を確認後、溶媒を減圧留去した。カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 10 : 1) で精製後、赤色固体を得た。同定は<sup>1</sup>H-NMR、ESI-TOF質量分析を用いて行っ

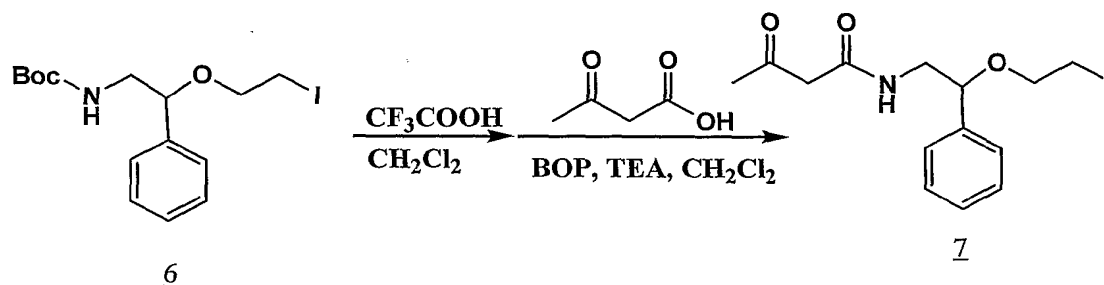
た。

収率 85 %

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , TMS, r. t.,  $\delta$  / ppm) 1.35 (s, 9H), 3.22 (t, 2H), 3.38~3.66 (m, 4H), 5.02 (br s, 1H), 5.06 (dd, 1H), 7.41 ~ 7.58 (m, 5H)

5 ESI-TOF  $[\text{M} + \text{Na}]^+ = 414$

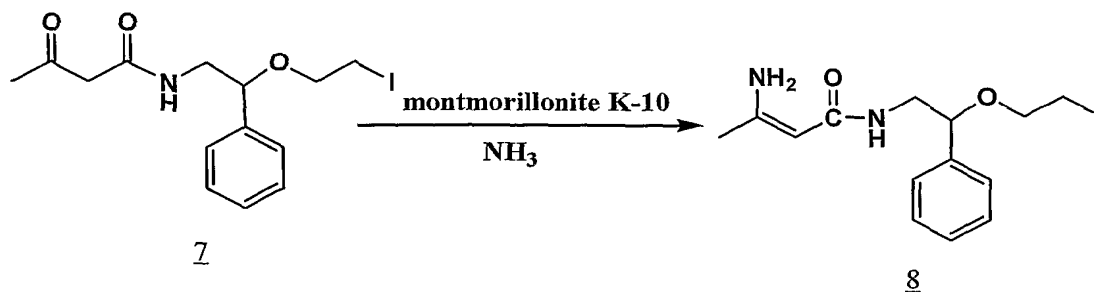
(6) N-(2-(2-ヨードエトキシ)-2-フェニルエチル)-3-オキソブタンアミドの合成



10 ml ニ口フラスコに化合物6 0.20 g (0.51 mmol)を加え脱気窒素置換後、塩化メチレン2.0 ml、トリフルオロ酢酸0.5 mlを加え室温で撹拌した。30分後、TL C (SiO<sub>2</sub>; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 4 : 1) で原料消失を確認し、溶媒を減圧留去した。得られた化合物に塩化メチレン5.0 ml、トリエチルアミン0.05 g (0.51 mmol)、アセト酢酸0.05 g (0.51 mmol)を加え、氷浴下30分間撹拌した。BOP (Benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate) 試薬0.22 g (0.51 mmol)を添加後、氷浴下で30分間、室温に戻した後24時間撹拌した。TLC (SiO<sub>2</sub>; *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 4 : 1) で原料消失を確認し、塩化メチレン50 mlで3回抽出後、有機相を無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去後、化合物を得た。

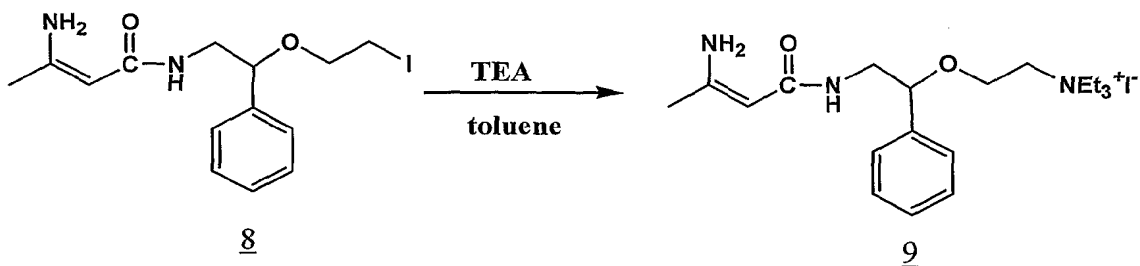
(7) 3-アミノ-N-(2-(2-ヨードエトキシ)-2-フェニルエチル)-2-ブテンアミドの合成

35



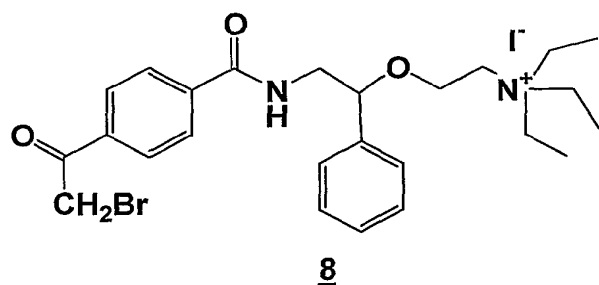
10 ml 耐圧型フラスコに化合物7 0.20 g (0.60 mmol)、アンモニア水 5.0 ml、  
 モントモリロナイトK-10 0.1 gを加え、24時間室温で撹拌した。塩化メチレンで  
 抽出後、水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去後、シ  
 リカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した。

5 (8) 3-アミノ-N-(2-フェニル-2-(2-(トリエチルアミノ)エトキシ)エチル)-2-  
 ブテンアミドの合成



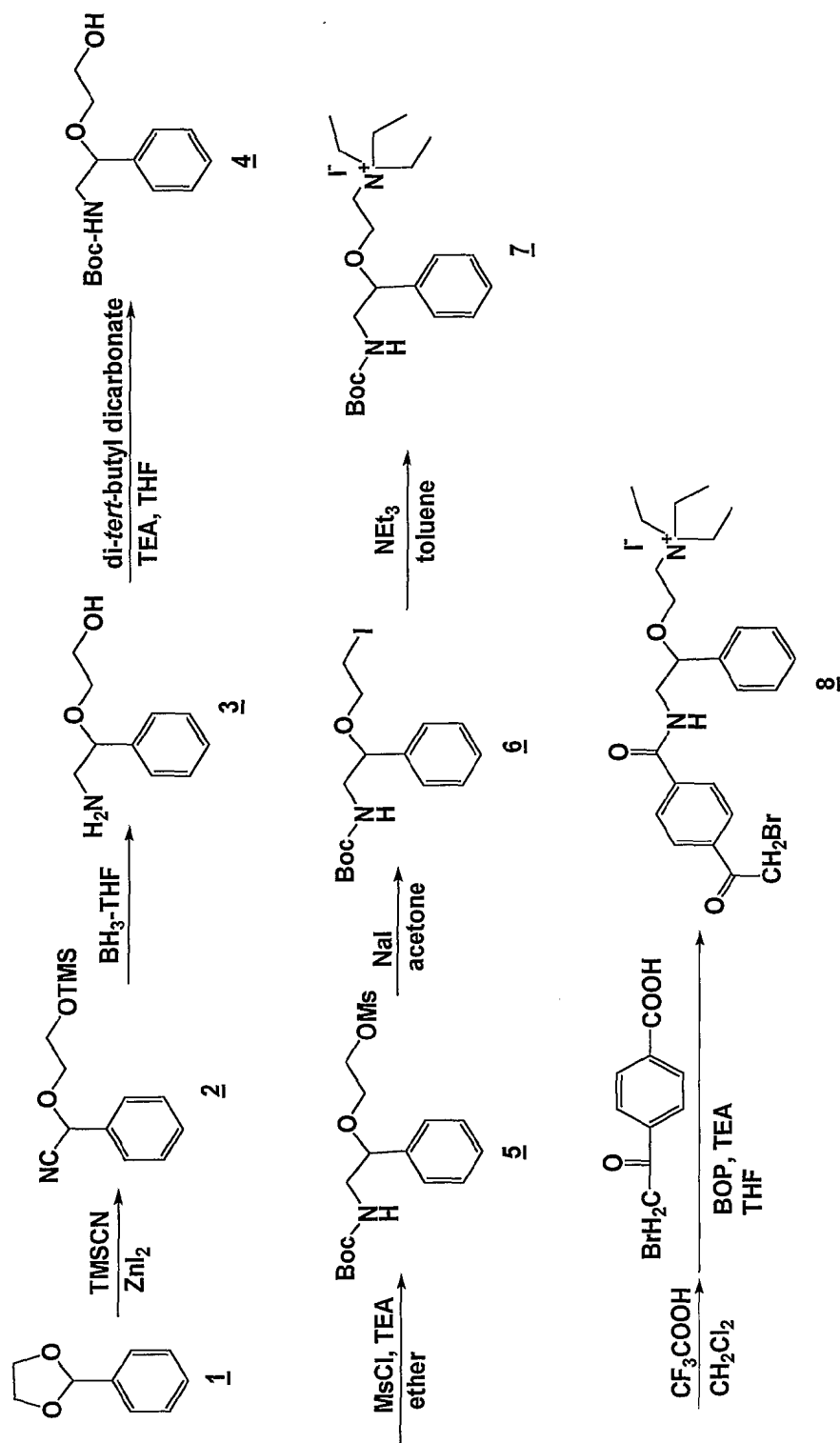
10 ml 耐圧型フラスコに化合物8 0.20 g (0.58 mmol)、トルエン5.0 ml、トリ  
 エチルアミン1.0 mlを加え、室温で24時間撹拌した。析出した沈殿を分取後、ト  
 ルエンで洗浄し減圧乾燥した。

10 実施例4 プローブの合成(その4)

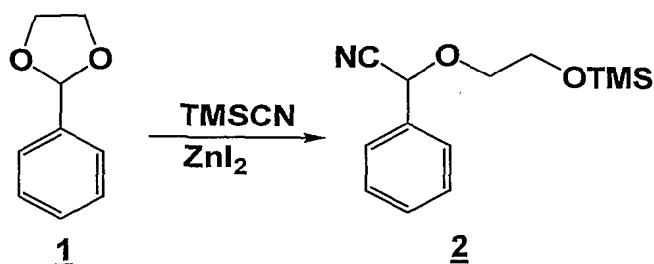


下記のスキームに従い、 $R^1$ として第四級アミン、 $R^2$ として $-COCH_2Br$ を有す  
 る上記化合物を合成した。

スキーム



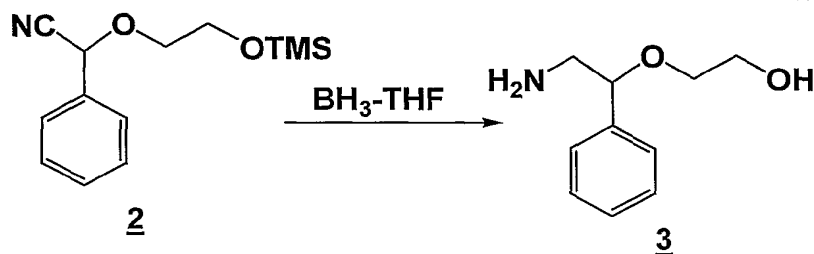
(1) フェニル-(2-トリメチルシラニルオキシ-エトキシ)-アセトニトリル (化合物 2) の合成



30 ml ナス型フラスコに 2-フェニル-1,3-ペンタジオン(化合物 1) 3.0 g (9.9 mmol) を加え氷浴につけた後、TMSCN 2.1ml (21.43 mmol)、ZnI<sub>2</sub> 0.3 g (0.94mmol)を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応溶液にジエチルエーテルを加え、水で洗浄後、MgSO<sub>4</sub> を用いて乾燥した。溶媒を減圧留去後、黄色油状物質(4.17g, 収率 83.2 %)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (270MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 0.15(s, 9H, SiCH<sub>3</sub>), 3.80(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OSi-), 4.11(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OSi-), 5.39(s, 1H, ArCH), 7.45(m, 5H, ArH) ESI-TOF(+): [M + Na]<sup>+</sup> = 272.0

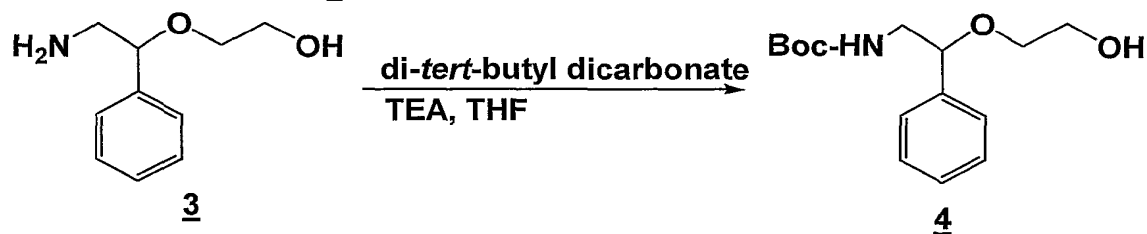
(2) 2-(2-アミノ-1-フェニル-エトキシ)-エタノール(化合物 3)の合成



100 ml 三口フラスコに、化合物 2 1.0 g (4.01 mmol)を反応容器に加え、脱気窒素置換後、氷浴につけて 1 M BH<sub>3</sub>・THF 溶液 30ml をゆっくりと加えた。氷浴中で 30 分間、室温で 4 時間攪拌させた。反応終了後、反応容器を氷浴につけ、1 N HCl 水溶液を加え酸性にした。溶媒を減圧留去後、水 20ml を加え、NaOH 水溶液を加え pH 10 とした。酢酸エチルを加えて抽出した後、水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、無色オイル状の化合物(650mg, 収率 89.5 %)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 2.95(d, 2H, NH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.65(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 3.75(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 4.46(t, 1H, ArCH), 7.32(m, 5H, ArH) ESI-TOF (+): [M + H]<sup>+</sup> = 182.0

(3) [2-(2-ヒドロキシ-エトキシ)-2-フェニル-エチル]-カルバミン酸 tert-ブチルエステル(化合物 4) の合成

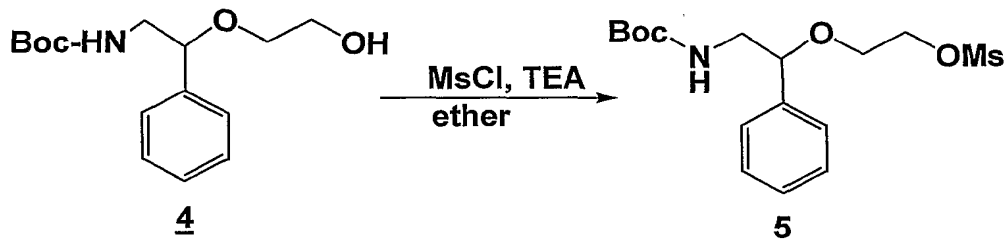


100 ml ニ口フラスコに、化合物 3 1.40 g (7.70 mmol) を入れ窒素置換後、氷浴中で乾燥 THF 55 ml、TEA 0.78 g (7.69 mmol)、Di-tert-butyl-dicarbonate 1.68 g (7.70 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。溶媒を減圧留去後、カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>、クロロホルム) で精製し、黄色油状化合物 (1.30g, 収率 59.9 %) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 1.48 (s, 9H, *t*-Bu), 3.24 (d, 2H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.49 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 3.73 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 4.42 (t, 1H, ArCH), 7.33 (m, 5H, ArH)

ESI-TOF (+): [M + Na]<sup>+</sup> = 304.0

(4) メタンスルホン酸 2-(2-tert-ブトキシカルボニルアミノ-1-フェニル-エトキシ)-エチルエステル(化合物 5) の合成



50 ml ナス型フラスコに、化合物 4 500 mg (1.78 mmol) を加え窒素置換後、乾燥 THF 16 ml、TEA 0.5 ml (4.55 mmol) を加えて氷浴につけた。MsCl 440 mg (3.84 mmol) を加え、室温で一時間攪拌した。溶媒を減圧留去後、クロロホルムを加えて析出した沈殿をろ別後、ろ液を減圧濃縮した。カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>, 酢酸エチル : *n*-ヘキサン = 2 : 1 v/v) で精製し、黄色油状物質 (491mg, 収率 77.0 %) を得た。

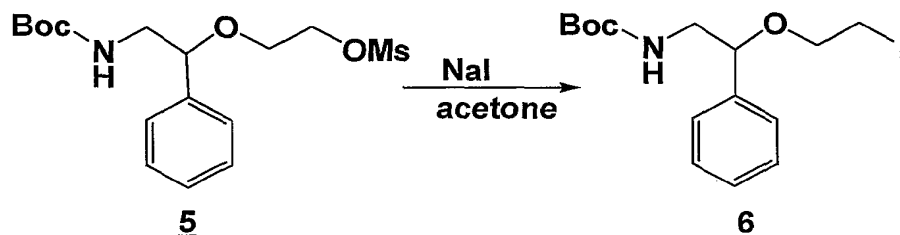
<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 1.44 (s, 9H, *t*-Bu), 3.24 (d, 2



H, NH-CH<sub>2</sub>) , 3.44 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OS-) , 3.62 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OS-) , 4.34 (t, 1H, ArCH) , 7.33 (m, 5H, ArH)

ESI-TOF (+) : [ M + Na ]<sup>+</sup> = 382.2

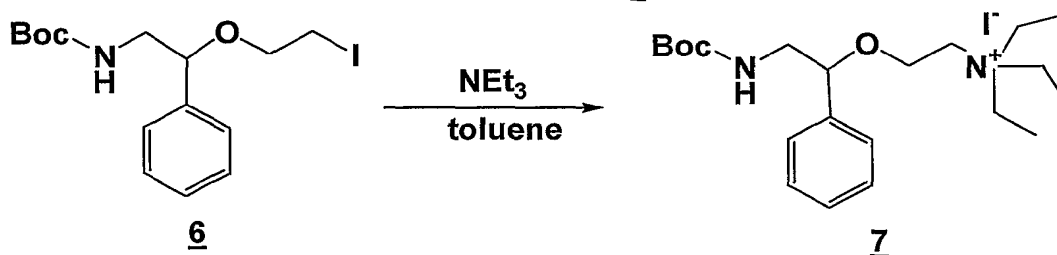
(5) [2-(2-ヨード-エトキシ)-2-フェニル-エチル]-カルバミン酸 tert-ブチル  
 エステル(化合物 6)の合成



50 ml ナス型フラスコに、化合物 5 100 mg (0.28 mmol)を加え、窒素置換後、アセトン 10 ml、NaI 1.0 g (6.67 mmol)を加えて2時間還流した。NaI をろ別後、溶媒を減圧留去した。カラムクロマトグラフィー(SiO<sub>2</sub>, *n*-ヘキサン:酢酸エチル = 1 : 1 v/v)で精製し、黄色油状化合物(104mg, 収率 93.99 %)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (270MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 1.45(s, 9H, *t*-Bu) , 3.22(t, 2H, I-CH<sub>2</sub>) , 3.49(d, 2H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.67(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>), 4.43(t, 1H, ArCH), 7.34 (m, 5H, ArH) ESI-TOF (+) : [M + Na]<sup>+</sup> = 413.9

(6) [2-(2-tert-ブトキシカルボニルアミノ-1-フェニル-エトキシ)-エチル]-トリエチル-アンモニウム ヨウ化物(化合物 7)の合成



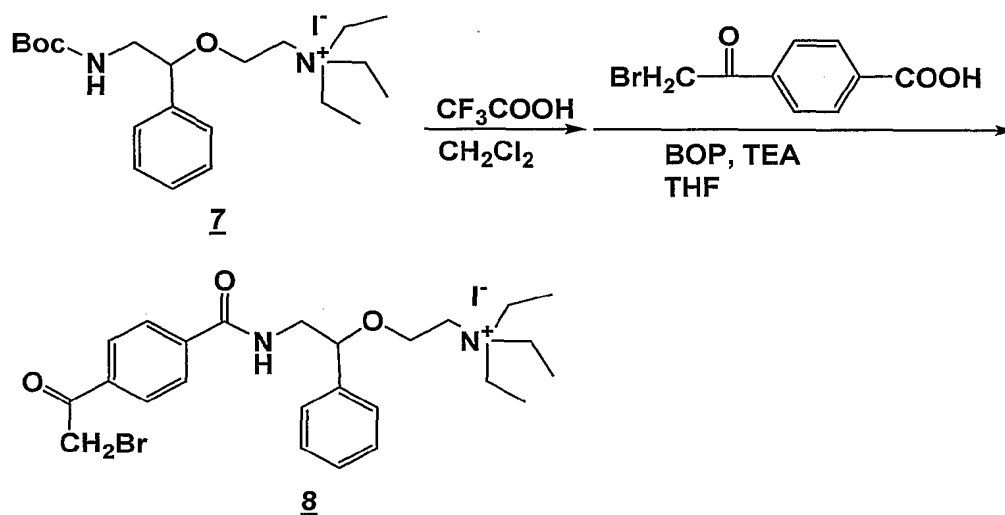
50 ml ナス型フラスコに、化合物 6 350 mg (0.90 mmol)、トルエン 8.75 ml、TEA 1.75 ml (17.33 mmol)を加えて、80 °Cで24時間反応を行なった。溶媒を減圧留去後、大型薄層クロマトグラフィー(SiO<sub>2</sub>, クロロホルム:メタノール=7 : 1 v/v)で精製し、赤黄色固体物質(383mg, 収率 66.70%)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 1.42(t, 9H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.48(s,

9H, *t*-Bu), 3.53 (q, 6H,  $\text{NR}_3\text{-CH}_2$ ), 3.70 (t, 2H,  $\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{N-}$ ), 3.72 (d, 2H,  $\text{N-CH}_2$ ), 3.95 (t, 2H,  $\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{N-}$ ), 4.63 (t, 1H, ArCH), 7.35 (m, 5H, ArH)

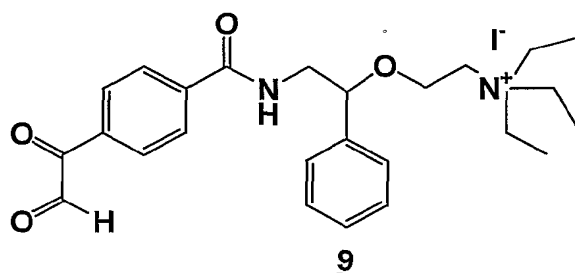
ESI-TOF (+) :  $[\text{M}]^+ = 365.2$

(7) 化合物 8 の合成



- 5        30 ml ナス型フラスコに化合物 7 0.50 g (1.02 mmol)、TFA (トリフルオロ酢酸) 0.50 ml、塩化メチレン 10.0 ml を加え、室温で 30 分間撹拌した。溶媒を減圧留去後、ポンプで減圧乾燥した。窒素置換後、THF 20.0 ml、TEA 0.10 g (1.02 mmol)、BOP 0.10 g (1.02 mmol)、4-ブロモメチルアセチル安息香酸 0.25 g (1.02 mmol) を加え室温で 24 時間撹拌した。溶媒を減圧留去後、カラムクロマトグラフィーで精製し、目的化合物を得た。
- 10

実施例 5 プローブの合成 (その 5)

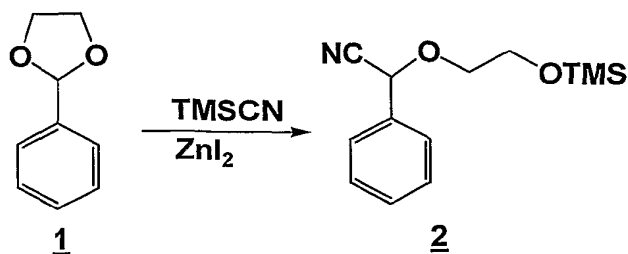


下記のスキームに従い、 $\text{R}^1$  として第四級アミン、 $\text{R}^2$  として  $\text{-COCHO}$  を有する上記化合物を合成した。

スキーム



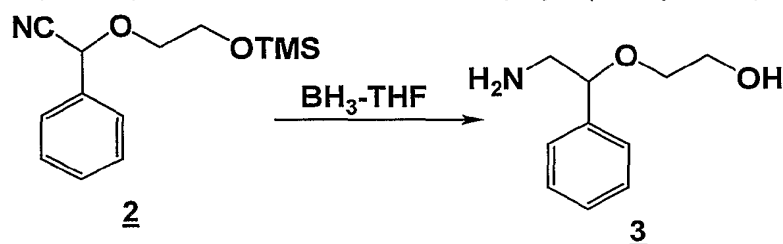
4 2



30 ml ナス型フラスコに 2-フェニル-1,3-ペンタジオン(化合物 1) 3.0 g (19.9 mmol) を加え氷浴につけた後、TMSCN 2.1ml (21.43 mmol)、ZnI<sub>2</sub> 0.3 g (0.94 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応溶液にジエチルエーテルを加え、水で洗浄後、MgSO<sub>4</sub> を用いて乾燥した。溶媒を減圧留去後、黄色油状物質(4.17g, 収率 83.2 %)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (270MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 0.15(s, 9H, SiCH<sub>3</sub>), 3.80(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OSi-), 4.11(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OSi-), 5.39(s, 1H, ArCH), 7.45(m, 5H, ArH) ESI-TOF (+): [M + Na]<sup>+</sup> = 272.0

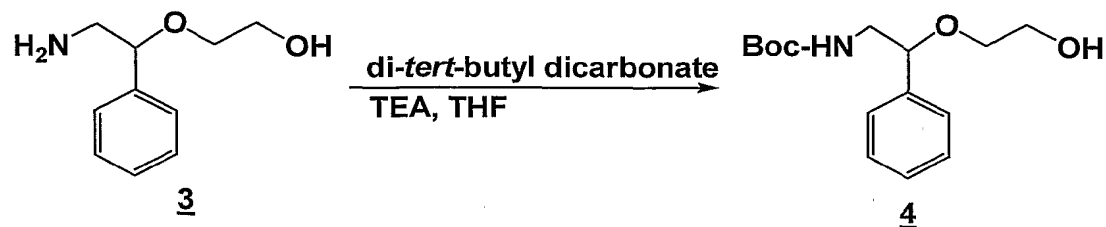
(2) 2-(2-アミノ-1-フェニル-エトキシ)-エタノール(化合物 3)の合成



100 ml 三口フラスコに、化合物 2 1.0 g (4.01 mmol) を反応容器に加え、脱気窒素置換後、氷浴につけて 1 M BH<sub>3</sub> · THF 溶液 30ml をゆっくりと加えた。氷浴中で 30 分間、室温で 4 時間攪拌させた。反応終了後、反応容器を氷浴につけ、1N HCl 水溶液を加え酸性にした。溶媒を減圧留去後、水 20ml を加え、NaOH 水溶液を加え pH 10 とした。酢酸エチルを加えて抽出した後、水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、無色オイル状の化合物(650mg, 収率 89.5 %)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 2.95(d, 2H, NH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.65(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 3.75(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 4.46(t, 1H, ArCH), 7.32(m, 5H, ArH) ESI-TOF (+): [M + H]<sup>+</sup> = 182.0

(3) [2-(2-ヒドロキシ-エトキシ)-2-フェニル-エチル]-カルバミン酸 tert-ブ

チルエステル(化合物 4) の合成

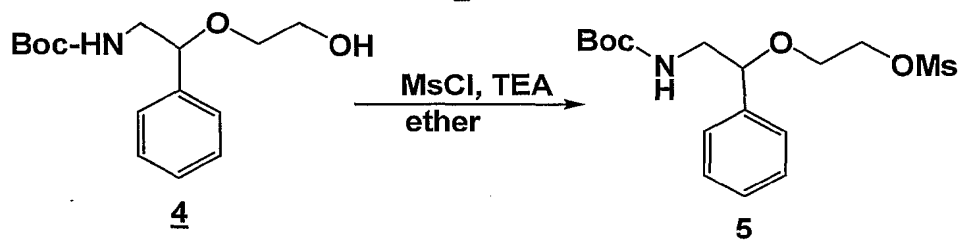
100 ml ニロフラスコに、化合物 3 1.40 g (7.70 mmol) を入れ窒素置換後、氷浴中で乾燥 THF 55 ml、TEA 0.78 g (7.69 mmol)、ジ-tert-ブチルジカーボネート 1.68 g (7.70 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。溶媒を減圧留去後、

5 カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>、クロロホルム) で精製し、黄色油状化合物 (1.30g, 収率 59.9 %) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 1.48 (s, 9H, *t*-Bu), 3.24 (d, 2H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.49 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 3.73 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 4.42 (t, 1H, ArCH), 7.33 (m, 5H, ArH)

10 ESI-TOF (+) : [ M + Na ]<sup>+</sup> = 304.0

(4) メタンスルホン酸 2-(2-tert-ブトキシカルボニルアミノ-1-フェニル-エトキシ)-エチルエステル(化合物 5) の合成



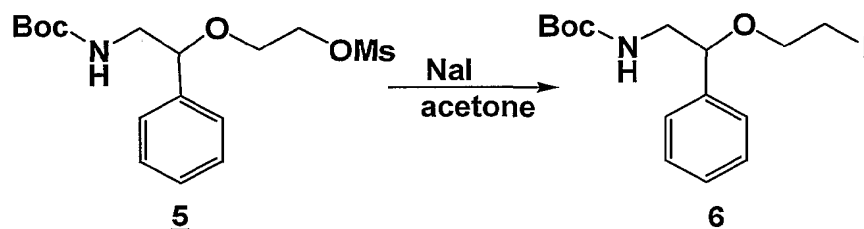
50 ml ナス型フラスコに、化合物 4 500 mg (1.78 mmol) を加え窒素置換後、乾燥 THF 16 ml、TEA 0.5 ml (4.55 mmol) を加えて氷浴につけた。MsCl 440 mg (3.84 mmol) を加え、室温で一時間攪拌した。溶媒を減圧留去後、クロロホルムを加えて析出した沈殿をろ別後、ろ液を減圧濃縮した。カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>, 酢酸エチル : *n*-ヘキサン = 2 : 1 v/v) で精製し、黄色油状物質 (491mg, 収率 77.0 %) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 1.44 (s, 9H, *t*-Bu), 3.24 (d, 2

H, NH-CH<sub>2</sub>) , 3.44 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OS-) , 3.62 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OS-) , 4.34 (t, 1H, ArCH) , 7.33 (m, 5H, ArH)

ESI-TOF (+) : [ M + Na ]<sup>+</sup> = 382.2

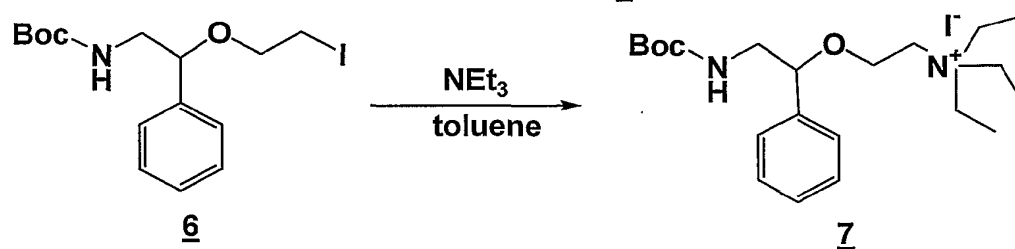
(5) [2-(2-ヨード-エトキシ)-2-フェニル-エチル]-カルバミン酸 tert-ブチル  
 エステル(化合物 5) の合成



50 ml ナス型フラスコに、化合物 5 100 mg (0.28 mmol) を加え、窒素置換後、アセトン 10 ml、NaI 1.0 g (6.67 mmol) を加えて 2 時間還流した。NaI をろ別後、溶媒を減圧留去した。カラムクロマトグラフィー(SiO<sub>2</sub>, *n*-ヘキサン:酢酸エチル = 1:1 v/v) で精製し、黄色油状化合物(104mg, 収率 93.99 %)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (270MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 1.45(s, 9H, *t*-Bu) , 3.22(t, 2H, I-CH<sub>2</sub>) , 3.49(d, 2H, NH-CH<sub>2</sub>) , 3.67(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>) , 4.43(t, 1H, ArCH) , 7.34(m, 5H, ArH) ESI-TOF (+) : [ M + Na ]<sup>+</sup> = 413.9

(6) [2-(2-tert-ブトキシカルボニルアミノ-1-フェニル-エトキシ)-エチル]-トリエチルアンモニウム ヨウ化物(化合物 7) の合成



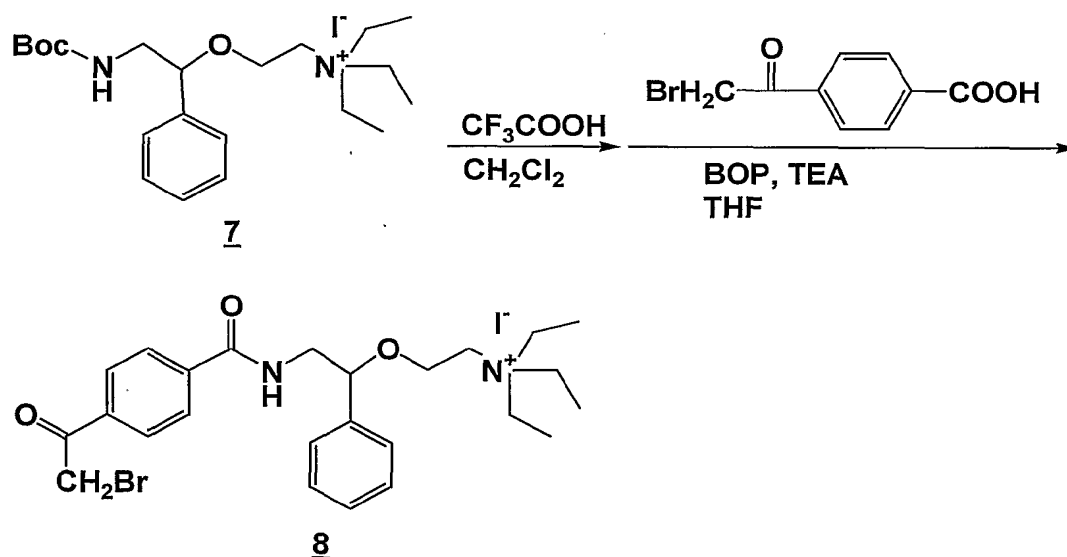
50 ml ナス型フラスコに、化合物 6 350 mg (0.90 mmol)、トルエン 8.75 ml、TEA 1.75 ml (17.33 mmol) を加えて、80 °C で 24 時間反応を行なった。溶媒を減圧留去後、大型薄層クロマトグラフィー(SiO<sub>2</sub>, クロロホルム:メタノール=7:1 v/v) で精製し、赤黄色固体物質(383mg, 収率 66.70%)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 1.42(t, 9H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) , 1.48(s,

9H, *t*-Bu), 3.53 (q, 6H, NR<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.70 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), 3.72 (d, 2H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.95 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), 4.63 (t, 1H, ArCH), 7.35 (m, 5H, ArH)

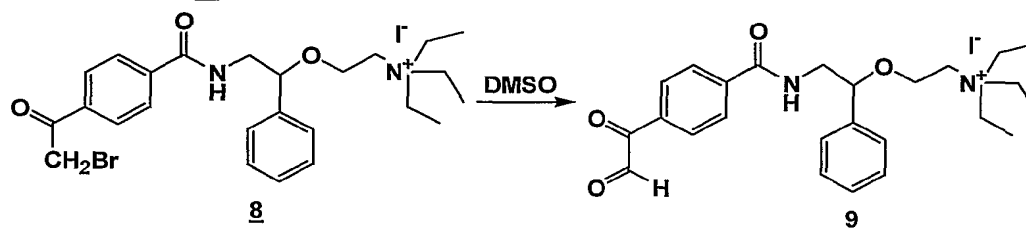
ESI-TOF (+) : [M]<sup>+</sup> = 365.2

(7) 化合物 8 の合成



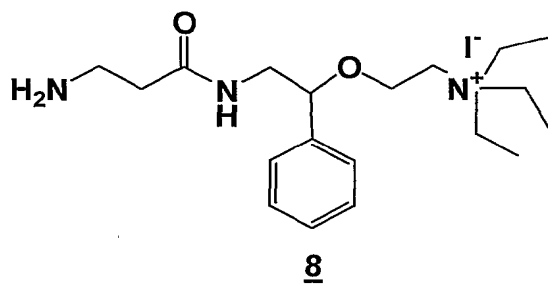
5        30 ml ナス型フラスコに化合物 7 0.50 g (1.02 mmol)、TFA 0.50 ml、塩化メチレン 10.0 ml を加え、室温で 30 分間攪拌した。溶媒を減圧留去後、ポンプで減圧乾燥した。窒素置換後、THF 20.0 ml、TEA 0.10 g (1.02 mmol)、BOP 0.10 g (1.02 mmol)、4-ブロモメチルアセチル安息香酸 0.25 g (1.02 mmol) を加え室温で 24 時間攪拌した。溶媒を減圧留去後、カラムクロマトグラフィーで精製し、  
10        目的化合物を得た。

(8) 化合物 9 の合成



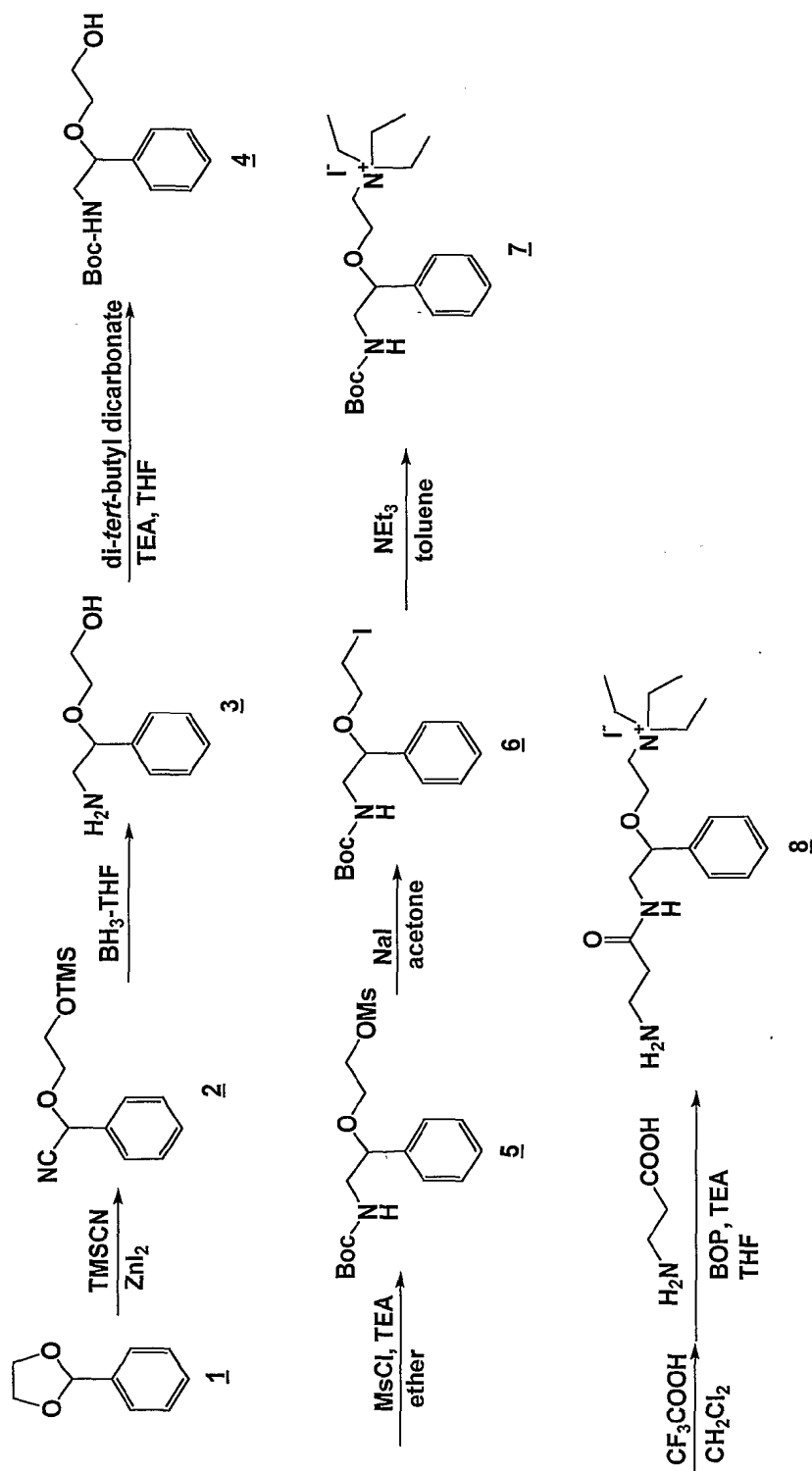
20 ml ナス型フラスコに化合物 8 0.25 g (0.41 mmol)、DMSO 5.0 ml を加え、室温で 2 時間攪拌した。溶媒を減圧留去後、カラムクロマトグラフィーで精製し目的化合物を得た。

## 実施例6 プローブの合成（その6）

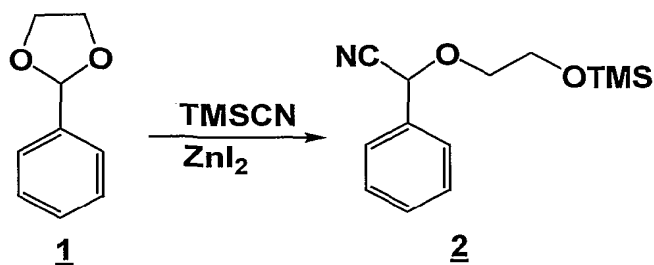


下記のスキームに従い、R<sup>1</sup>として第四級アミン、R<sup>2</sup>として-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>を有する上記化合物を合成した。





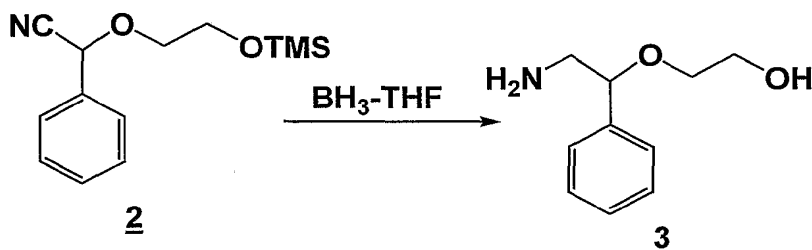
(1) フェニル-(2-トリメチルシリルオキシ-エトキシ)-アセトニトリル(化合物 2) の合成



30 ml ナス型フラスコに 2-フェニル-1,3-ペンタジオン(化合物 1) 3.0 g (19.9 mmol) を加え氷浴につけた後、TMSCN 2.1ml (21.43 mmol)、ZnI<sub>2</sub> 0.3 g (0.94 mmol)を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応溶液にジエチルエーテルを加え、水で洗浄後、MgSO<sub>4</sub> を用いて乾燥した。溶媒を減圧留去後、黄色油状物質(4.17g, 収率 83.2 %)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (270MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 0.15(s, 9H, SiCH<sub>3</sub>) , 3.80(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OSi-) , 4.11(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OSi-) , 5.39(s, 1H, ArCH) , 7.45(m, 5H, ArH)ESI-TOF (+) : [ M + Na ]<sup>+</sup> = 272.0

(2) 2-(2-アミノ-1-フェニル-エトキシ)-エタノール(化合物 3)の合成

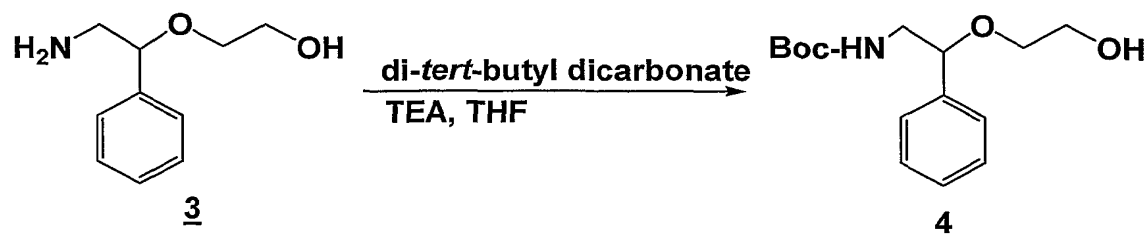


100 ml 三口フラスコに、化合物 2 1.0 g (4.01 mmol)を反応容器に加え、脱気窒素置換後、氷浴につけて 1 M BH<sub>3</sub>・THF 溶液 30ml をゆっくりと加えた。氷浴中で 30 分間、室温で 4 時間攪拌させた。反応終了後、反応容器を氷浴につけ、1N HCl 水溶液を加え酸性にした。溶媒を減圧留去後、水 20ml を加え、NaOH 水溶液を加え pH 10 とした。酢酸エチルを加えて抽出した後、水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、無色オイル状の化合物(650mg, 収率 89.5 %)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 2.95(d, 2H, NH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>) , 3.65(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH) , 3.75(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH) , 4.46(t, 1H, ArCH) , 7.32(m, 5H, ArH)ESI-TOF (+) : [ M + H ]<sup>+</sup> = 182.0

(3) [2-(2-ヒドロキシ-エトキシ)-2-フェニル-エチル]-カルバミン酸 tert-ブ

チルエステル(化合物 4)の合成



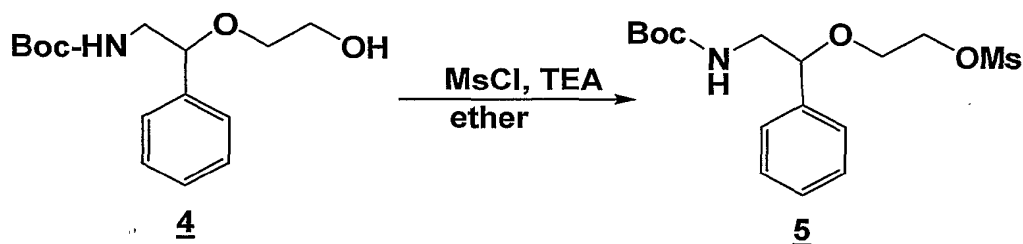
100 ml ニ口フラスコに、化合物 **3** 1.40 g (7.70 mmol) を入れ窒素置換後、氷浴中で乾燥 THF 55 ml、TEA 0.78 g (7.69 mmol)、ジ-tert-ブチルジカーボネート 1.68 g (7.70 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。溶媒を減圧留去後、

5 カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>、クロロホルム) で精製し、黄色油状化合物 (1.30g, 収率 59.9 %) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 1.48 (s, 9H, *t*-Bu), 3.24 (d, 2H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.49 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 3.73 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 4.42 (t, 1H, ArCH), 7.33 (m, 5H, ArH)

10 ESI-TOF (+) : [ M + Na ]<sup>+</sup> = 304.0

(4) メタンスルホン酸 2-(2-tert-ブトキシカルボニルアミノ-1-フェニル-エトキシ)-エチルエステル(化合物 5)の合成



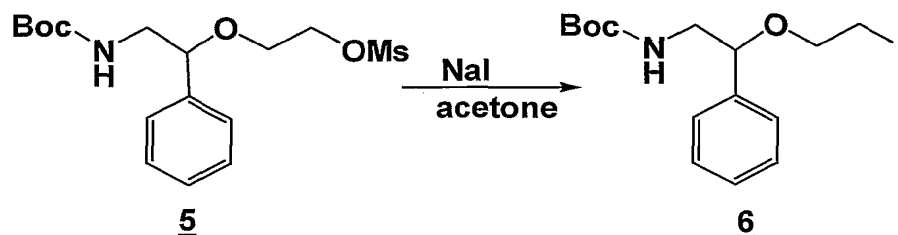
50 ml ナス型フラスコに、化合物 **5** 100 mg (0.28 mmol) を加え、窒素置換後、アセトン 10 ml、NaI 1.0 g (6.67 mmol) を加えて 2 時間還流した。NaI をろ別後、

15 溶媒を減圧留去した。カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>, *n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1 v/v) で精製し、黄色油状化合物 (104mg, 収率 93.99 %) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (270MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 1.45 (s, 9H, *t*-Bu), 3.22 (t, 2H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.49 (d, 2H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.67 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>), 4.43 (t, 1H, ArCH), 7.34 (m, 5H, ArH) ESI-TOF (+) : [ M + Na ]<sup>+</sup> = 413.9

20 (5) [2-(2-ヨード-エトキシ)-2-フェニル-エチル]-カルバミン酸 tert-ブチル

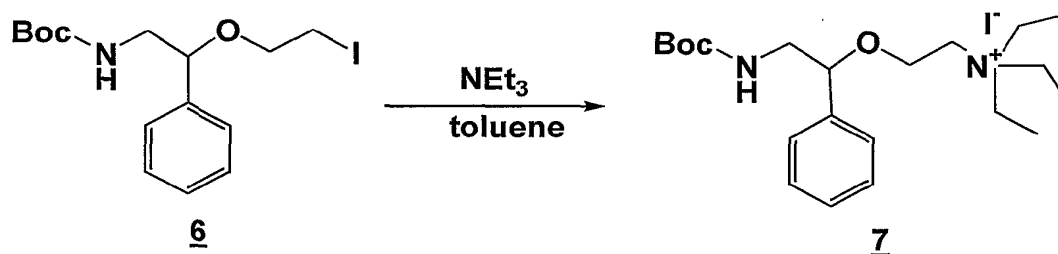
50

エステル(化合物 6)の合成

50 ml ナス型フラスコに、化合物 5 100 mg (0.28 mmol)を加え、窒素置換後、アセトン 10 ml、NaI 1.0 g (6.67 mmol)を加えて2時間還流した。NaI をろ別後、溶媒を減圧留去した。カラムクロマトグラフィー(SiO<sub>2</sub>, *n*-ヘキサン: 酢酸エチル = 1 : 1 v/v) で精製し、黄色油状化合物(104mg, 収率 93.99 %)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (270MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 1.45(s, 9H, *t*-Bu), 3.22(t, 2H, 1-CH<sub>2</sub>), 3.49(d, 2H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.67(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>), 4.43(t, 1H, ArCH), 7.34(m, 5H, ArH) ESI-TOF (+) : [M + Na]<sup>+</sup> = 413.9

(6) [2-(2-tert-ブトキシカルボニルアミノ-1-フェニル-エトキシ)-エチル]-トリエチルアンモニウム ヨウ化物(化合物 7)の合成

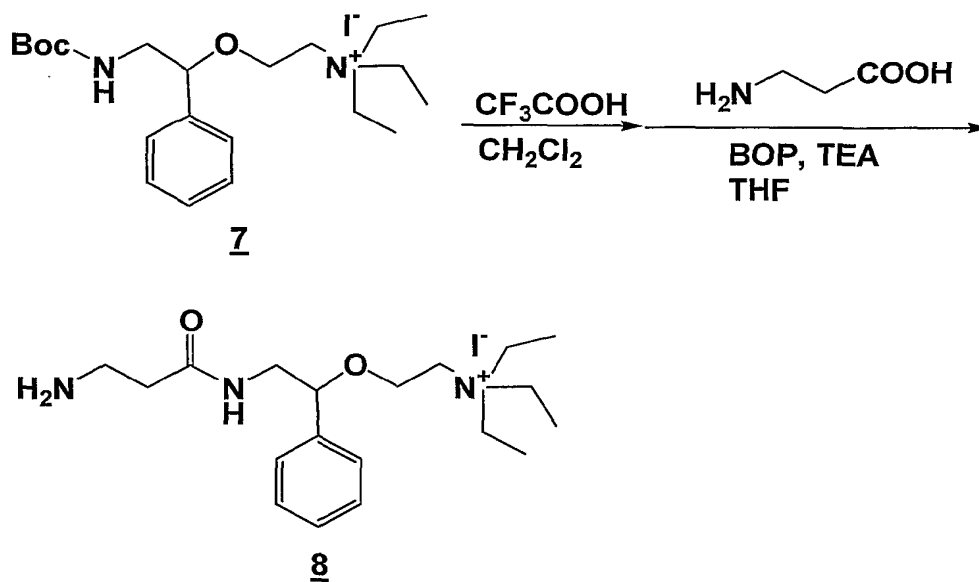


50 ml ナス型フラスコに、化合物 6 350 mg (0.90 mmol)、トルエン 8.75 ml、TEA 1.75 ml (17.33 mmol)を加えて、80 °Cで24時間反応を行なった。溶媒を減圧留去後、大型薄層クロマトグラフィー(SiO<sub>2</sub>, クロロホルム: メタノール=7 : 1 v/v)で精製し、赤黄色固体物質(383mg, 収率 66.70%)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 1.42(t, 9H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.48(s, 9H, *t*-Bu), 3.53(q, 6H, NR<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.70(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), 3.72(d, 2H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.95(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-), 4.63(t, 1H, ArCH), 7.35(m, 5H, ArH)

ESI-TOF (+) : [M]<sup>+</sup> = 365.2

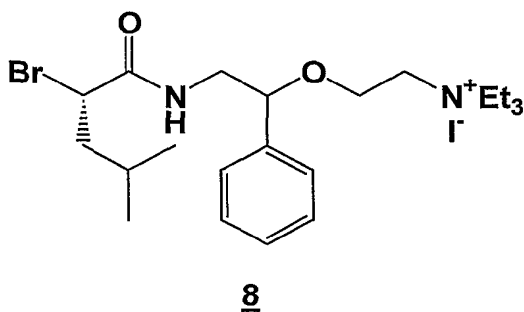
(7) 化合物 8の合成



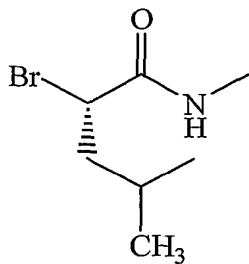
30 ml ナス型フラスコに化合物 **7** 0.50 g (1.02 mmol)、TFA 0.50 ml、塩化メチレン 10.0 ml を加え、室温で 30 分間攪拌した。溶媒を減圧留去後、ポンプで減圧乾燥した。窒素置換後、THF 20.0 ml、TEA 0.10 g (1.02 mmol)、BOP 0.10 g (1.02 mmol)、 $\beta$ -アラニン 0.10 g (1.02 mmol) を加え室温で 24 時間攪拌した。

5 溶媒を減圧留去後、カラムクロマトグラフィーで精製し、目的化合物を得た。

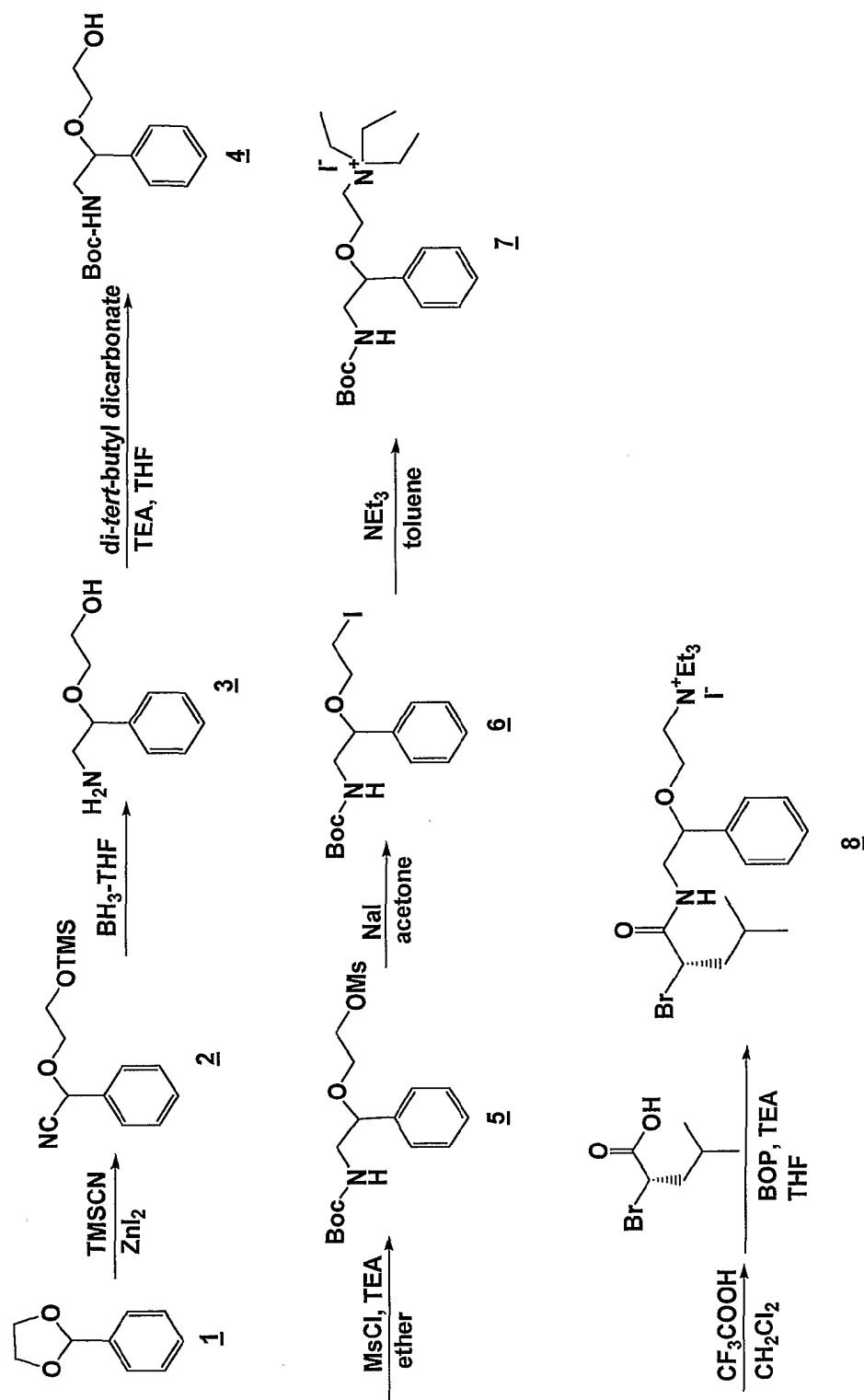
実施例 7 プローブの合成 (その 7)



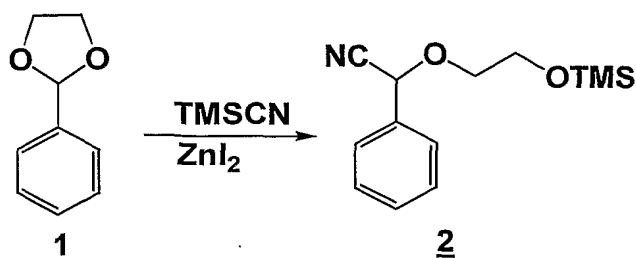
下記のスキームに従い、 $R^1$  として第四級アミン、 $R^2$  として



を有する上記化合物を合成した。



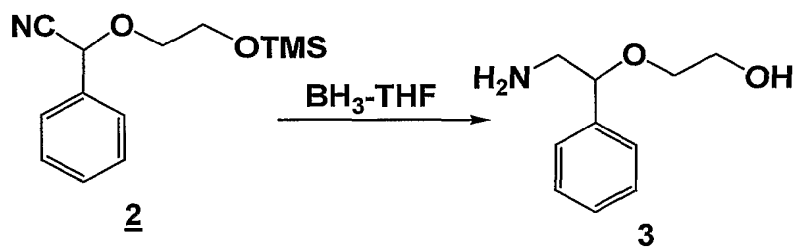
(1) フェニル-(2-トリメチルシリニルオキシ-エトキシ)-アセトニトリル(化合物 2) の合成



30 ml ナス型フラスコに 2-フェニル-1,3-ペンタジオン(化合物 1) 3.0 g (19.9 mmol) を加え氷浴につけた後、TMSCN 2.1ml (21.43 mmol)、ZnI<sub>2</sub> 0.3 g (0.94 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応溶液にジエチルエーテルを加え、水で洗浄後、MgSO<sub>4</sub> を用いて乾燥した。溶媒を減圧留去後、黄色油状物質(4.17g, 収率 83.2 %)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (270MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 0.15(s, 9H, SiCH<sub>3</sub>), 3.80(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OSi-), 4.11(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OSi-), 5.39(s, 1H, ArCH), 7.45(m, 5H, ArH) ESI-TOF (+) : [ M + Na ]<sup>+</sup> = 272.0

(2) 2-(2-アミノ-1-フェニル-エトキシ)-エタノール(化合物 3)の合成

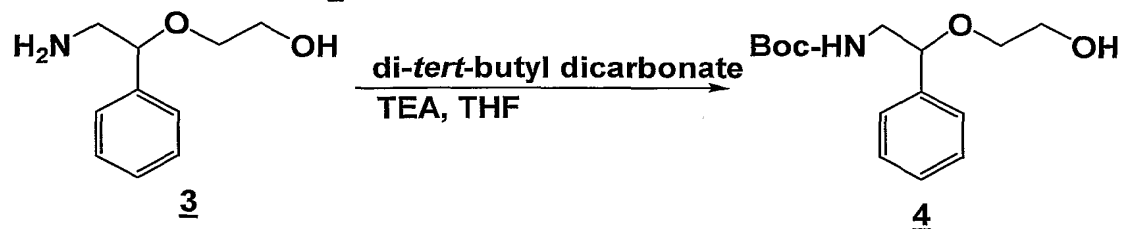


100 ml 三口フラスコに、化合物 2 1.0 g (4.01 mmol) を反応容器に加え、脱気窒素置換後、氷浴につけて 1 M BH<sub>3</sub> · THF 溶液 30ml をゆっくりと加えた。氷浴中で 30 分間、室温で 4 時間攪拌させた。反応終了後、反応容器を氷浴につけ、1N HCl 水溶液を加え酸性にした。溶媒を減圧留去後、水 20ml を加え、NaOH 水溶液を加え pH 10 とした。酢酸エチルを加えて抽出した後、水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、無色オイル状の化合物(650mg, 収率 89.5 %)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 2.95(d, 2H, NH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.65(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 3.75(t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 4.46(t, 1H, ArCH), 7.32(m, 5H, ArH) ESI-TOF (+) : [ M + H ]<sup>+</sup> = 182.0

(3) [2-(2-ヒドロキシ-エトキシ)-2-フェニル-エチル]-カルバミン酸 tert-ブ

チルエステル(化合物 4)の合成



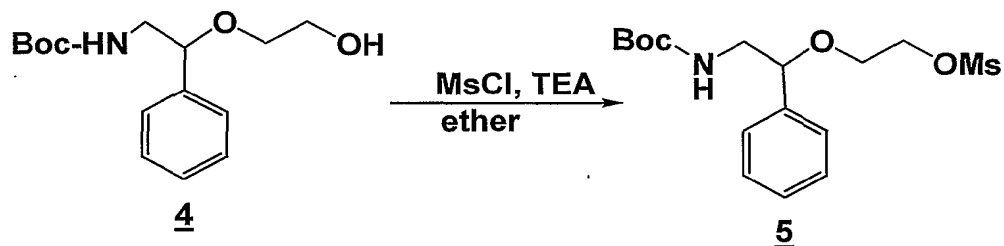
100 ml ニ口フラスコに、化合物 3 1.40 g (7.70 mmol) を入れ窒素置換後、氷浴中で乾燥 THF 55 ml、TEA 0.78 g (7.69 mmol)、ジ-tert-ブチルジカーボネート 1.68 g (7.70 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。溶媒を減圧留去後、

5 カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>、クロロホルム) で精製し、黄色油状化合物 (1.30g, 収率 59.9 %) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 1.48 (s, 9H, *t*-Bu), 3.24 (d, 2H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.49 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 3.73 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 4.42 (t, 1H, ArCH), 7.33 (m, 5H, ArH)

ESI-TOF (+) : [ M + Na ]<sup>+</sup> = 304.0

(4) メタンスルホン酸 2-(2-tert-ブトキシカルボニルアミノ-1-フェニル-エトキシ)-エチルエステル(化合物 5)の合成



50 ml ナス型フラスコに、化合物 4 500 mg (1.78 mmol) を加え窒素置換後、乾燥 THF 16 ml、TEA 0.5 ml (4.55 mmol) を加えて氷浴につけた。MsCl 440 mg (3.84 mmol) を加え、室温で一時間攪拌した。溶媒を減圧留去後、クロロホルムを加えて析出した沈殿をろ別後、ろ液を減圧濃縮した。カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>, 酢酸エチル : *n*-ヘキサン = 2 : 1 v/v) で精製し、黄色油状物質 (491mg, 収率 77.0 %) を得た。

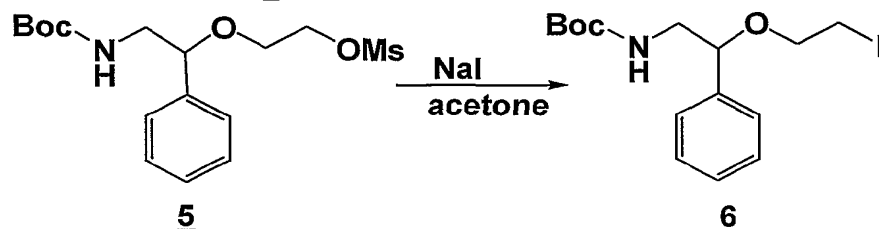
<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t., δ/ppm) 1.44 (s, 9H, *t*-Bu), 3.24 (d, 2H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.44 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OS-), 3.62 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OS-), 4.34 (



t, 1H, ArCH) , 7.33 (m, 5H, ArH)

ESI-TOF (+) :  $[M + Na]^+ = 382.2$

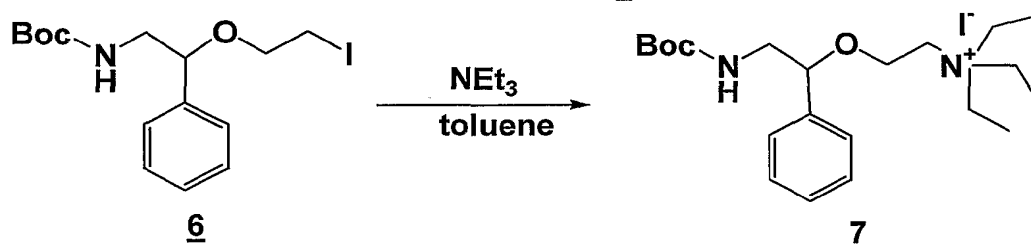
(5) [2-(2-ヨード-エトキシ)-2-フェニル-エチル]-カルバミン酸 tert-ブチルエステル(化合物 6)の合成



5 50 ml ナス型フラスコに、化合物 5 100 mg (0.28 mmol)を加え、窒素置換後、アセトン 10 ml、NaI 1.0 g (6.67 mmol)を加えて2時間還流した。NaI をろ別後、溶媒を減圧留去した。カラムクロマトグラフィー(SiO<sub>2</sub>, *n*-ヘキサン:酢酸エチル = 1 : 1 v/v)で精製し、黄色油状化合物(104mg, 収率 93.99 %)を得た。

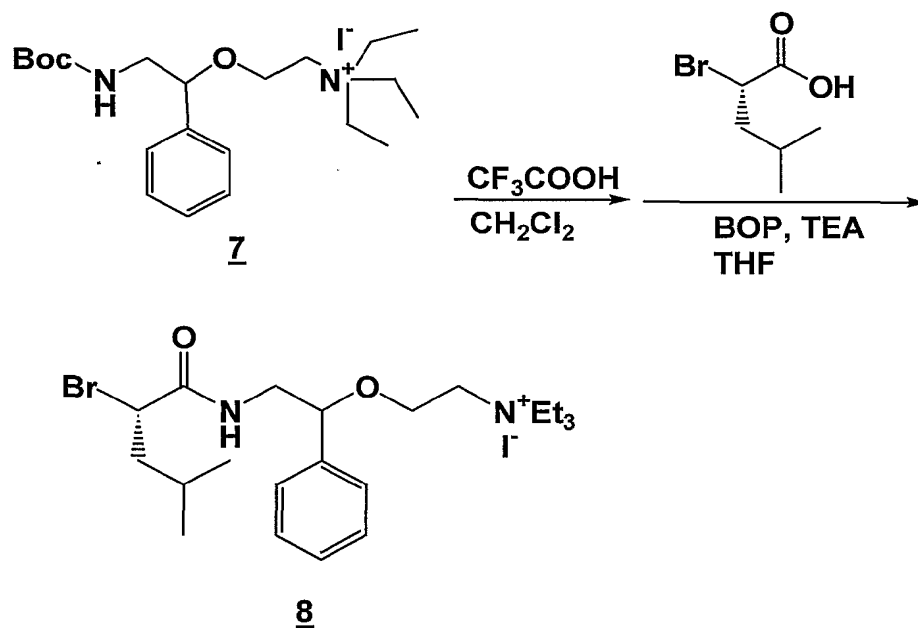
<sup>1</sup>H-NMR (270MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t.,  $\delta$ /ppm) 1.45 (s, 9H, *t*-Bu) , 3.22 (t, 2 H, I-CH<sub>2</sub>) , 3.49 (d, 2H, NH-CH<sub>2</sub>) , 3.67 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>) , 4.43 (t, 1H, ArCH) , 7.34 (m, 5H, ArH) ESI-TOF (+) :  $[M + Na]^+ = 413.9$

(6) [2-(2-tert-ブトキシカルボニルアミノ-1-フェニル-エトキシ)-エチル]-トリエチルアンモニウム ヨウ化物(化合物 7)の合成



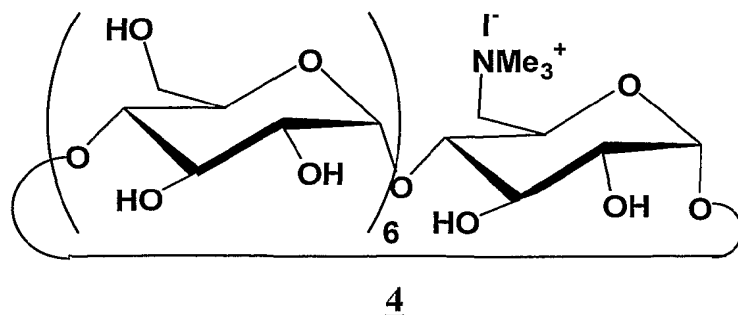
50 ml ナス型フラスコに、化合物 6 350 mg (0.90 mmol)、トルエン 8.75 ml、TEA 1.75 ml (17.33 mmol)を加えて、80 °Cで24時間反応を行なった。溶媒を減圧留去後、大型薄層クロマトグラフィー(SiO<sub>2</sub>, クロロホルム:メタノール=7 : 1 v/v)で精製し、赤黄色固体物質(383mg, 収率 66.70%)を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS, r. t.,  $\delta$ /ppm) 1.42 (t, 9H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) , 1.48 (s, 9H, *t*-Bu) , 3.53 (q, 6H, NR<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>) , 3.70 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-) , 3.72 (d, 2H, NH-CH<sub>2</sub>) , 3.95 (t, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N-) , 4.63 (t, 1H, ArCH) , 7.35 (m, 5H, ArH)

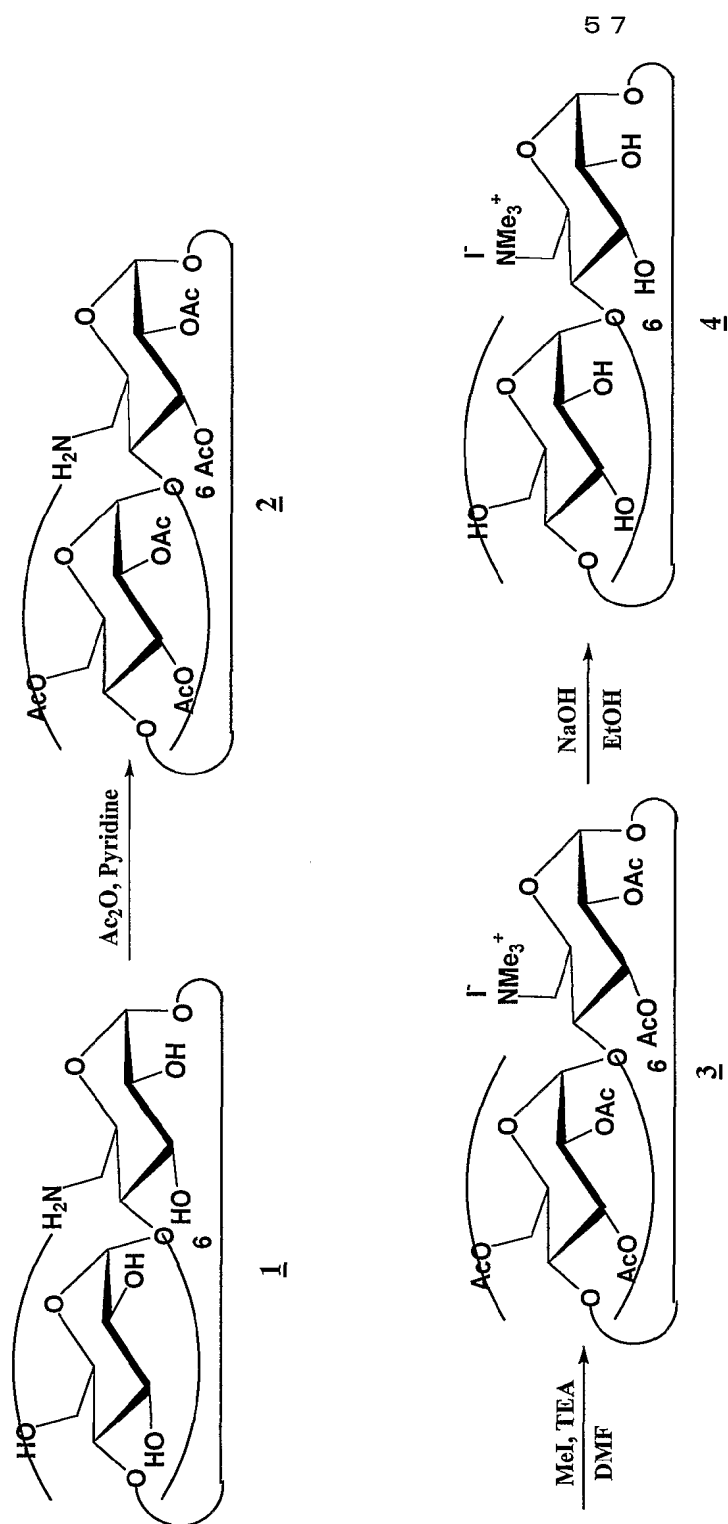
ESI-TOF (+) :  $[M]^+ = 365.2$ (7) 化合物 8 の合成

30 ml ナス型フラスコに化合物 7 0.50 g (1.02 mmol)、TFA 0.50 ml、塩化メチレン 10.0 ml を加え、室温で 30 分間攪拌した。溶媒を減圧留去後、ポンプで減圧乾燥した。窒素置換後、THF 20.0 ml、TEA 0.10 g (1.02 mmol)、BOP 0.10 g (1.02 mmol)、2-ブロモ-4-メチルペンタン酸 0.20 g (1.02 mmol) を加え室温で 24 時間攪拌した。溶媒を減圧留去後、カラムクロマトグラフィーで精製し、目的化合物を得た。

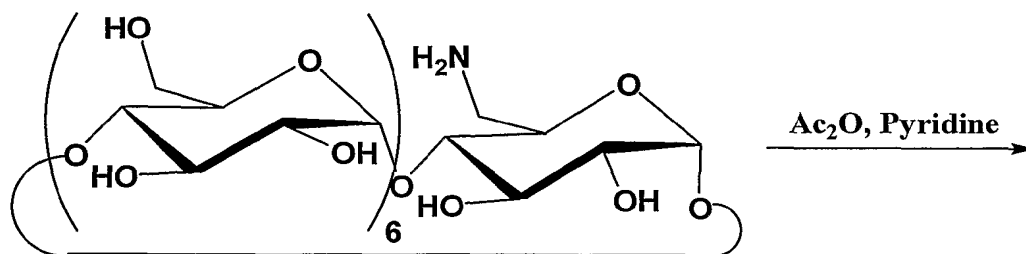
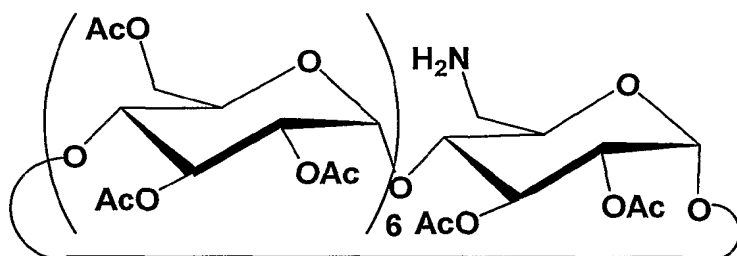
## 実施例 8 プローブの合成 (その 8)



下記のスキームに従い、 $R^1$  として第四級アミン、 $R^2$  としてシクロデキストリン (グルコピラノース単位の数 7) を有する上記化合物を合成した。

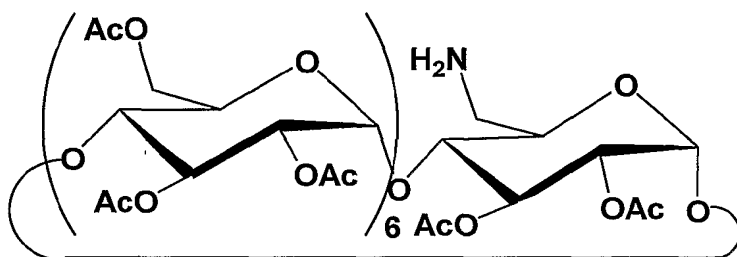
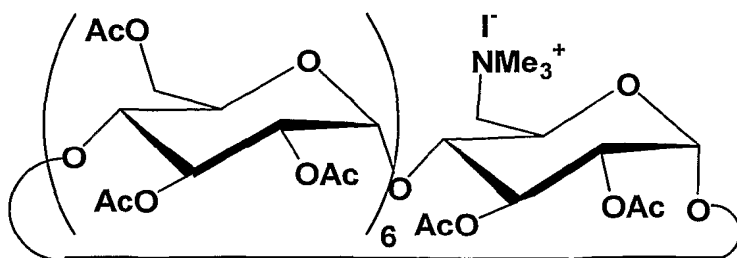
(1) 化合物 **2** の合成

58


 $\xrightarrow{\text{Ac}_2\text{O, Pyridine}}$ 


100 ml ナス型フラスコにモノ-6-デオキシ-6-アミノ-β-シクロデキストリン(**1**) 2.0 g (1.59 mmol)、無水酢酸 20.0 ml、ピリジン 10.0 ml を加え、室温で 24 時間攪拌した。反応溶液を冷水にあげ、エーテルで抽出した。飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去後、目的化合物を得た。

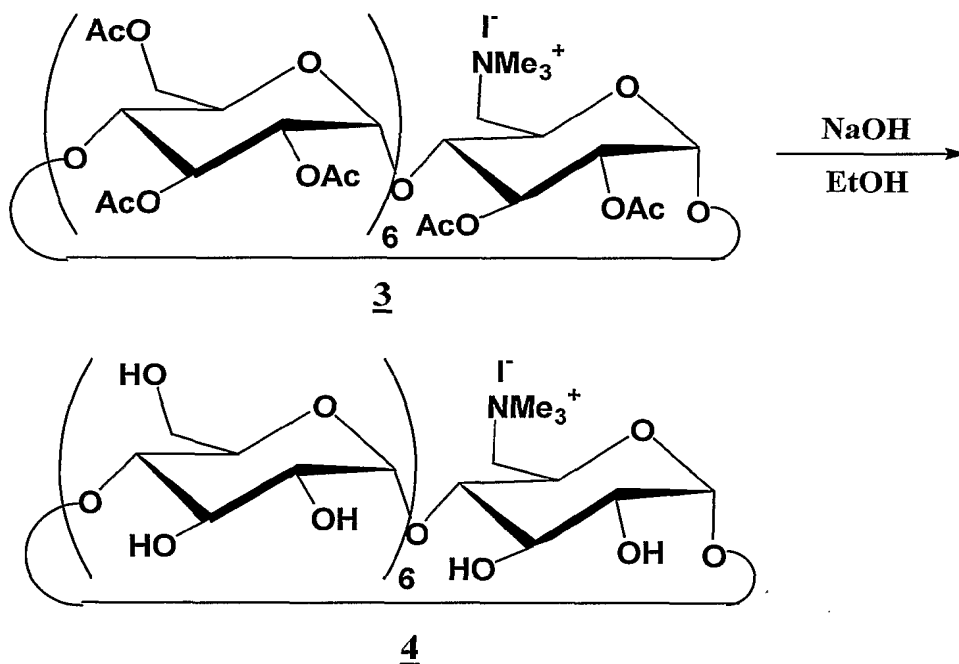
5 (2) 化合物 **3** の合成


 $\xrightarrow[\text{DMF}]{\text{MeI, TEA}}$ 


100 ml 三口フラスコに化合物 **2** 1.0 g (0.37 mmol)、ヨウ化メチル 0.26 g

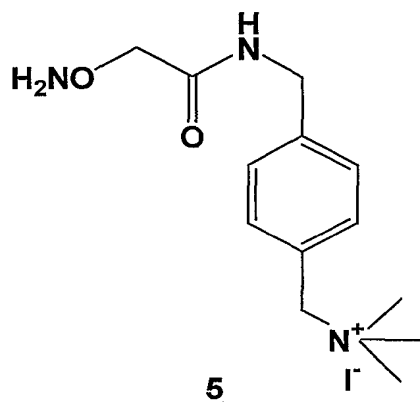
(1.85 mmol)、トリエチルアミン 0.05 g (0.40 mmol)、乾燥 DMF 20.0 ml を加え、窒素気流下、室温で 24 時間攪拌した。溶媒を減圧留去後、再沈殿操作を行い目的化合物を得た。

(3) 化合物 4 の合成

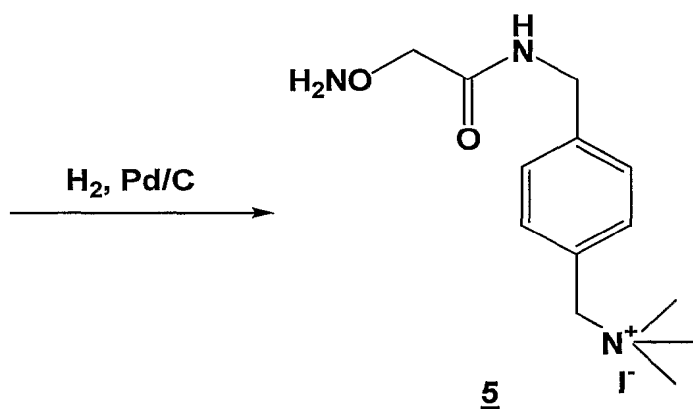
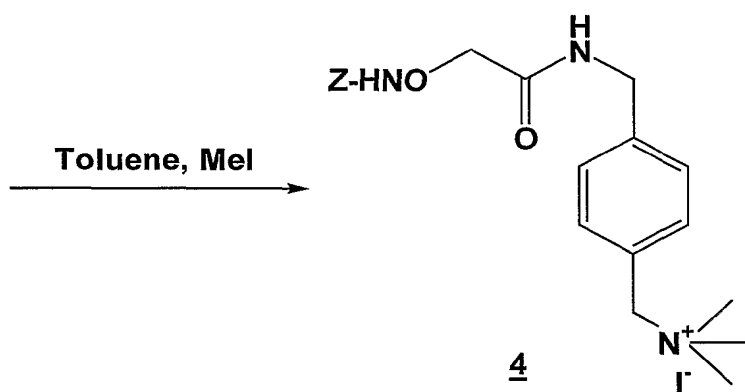
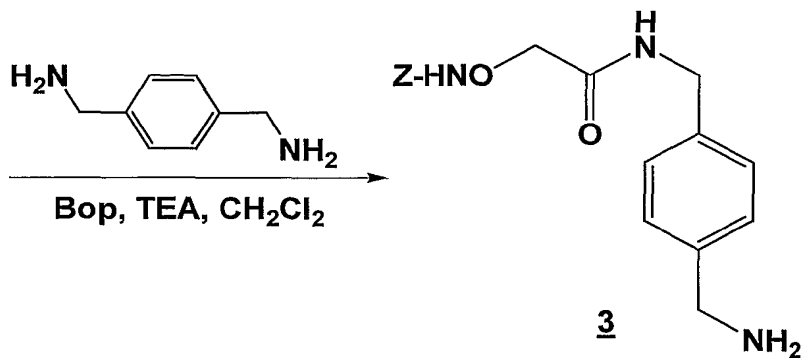
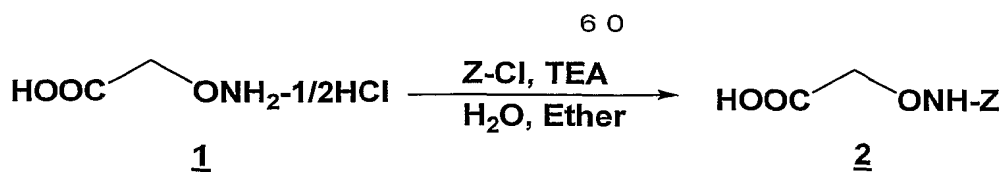


5 50 ml ナス型フラスコに化合物 3 1.0 g (0.35 mmol)、1.0 M NaOH 水溶液 5.0 ml、エタノール 20.0 ml を加え、5 時間還流した。溶媒の大部分を減圧留去後、水 20 ml を加え、1N HCl で酸性にした。溶媒を減圧留去後、再沈殿操作により精製し、目的化合物を得た。

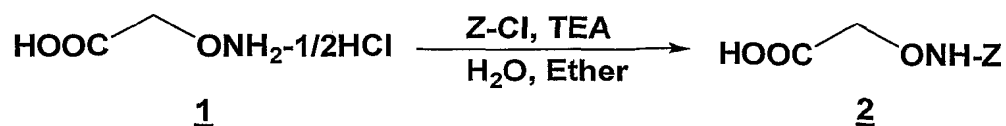
実施例 9 プローブの合成 (その 9)



10 下記のスキームに従い、 $R^1$  として第四級アミン、 $R^2$  として  $-\text{ONH}_2$  を有する上記化合物を合成した。



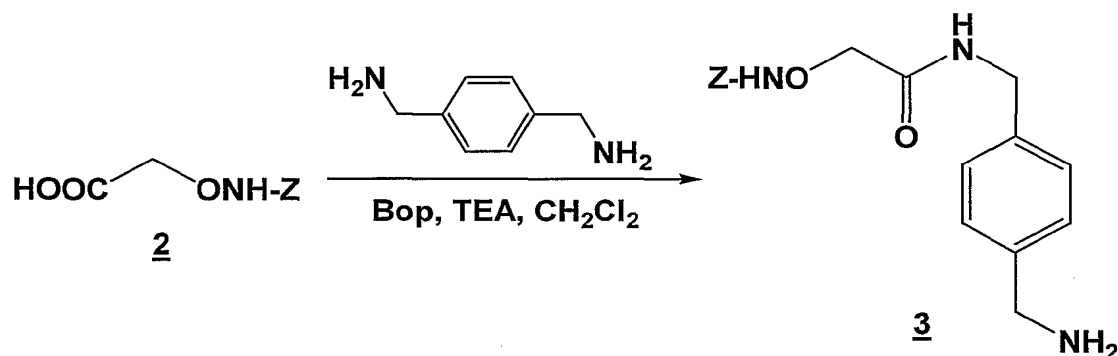
(1) 化合物 2 の合成



100 ml ナス型フラスコに、化合物 1 3.0 g (27.5 mmol)、水 30.0 ml、トリエチルアミン 3.46 g (34.3 mmol)を加え、氷浴につけた。Zクロリド 4.8 g (27.5

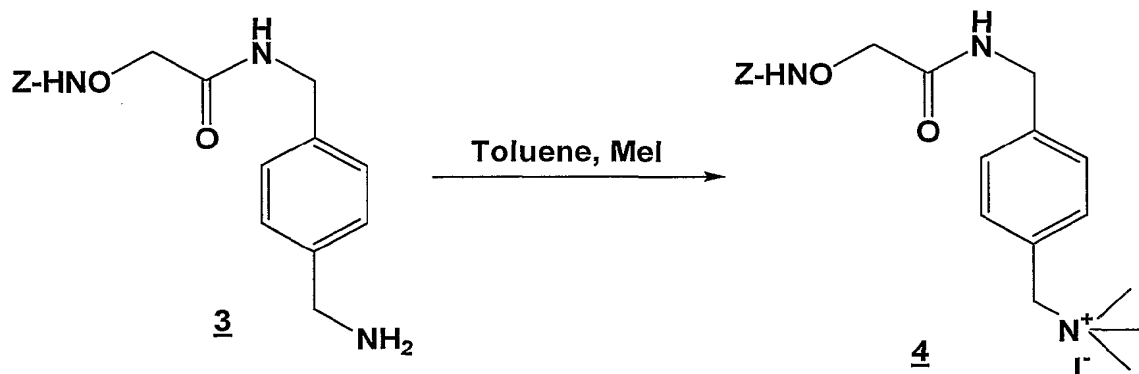
mmol) をジエチルエーテル 10.0 ml に溶解し、滴下ロートを用いて加えた。氷浴下で 30 分間、室温に戻して 7 時間攪拌した。酢酸エチルで抽出後、有機層を飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub> : 酢酸エチル = 2 : 3 v/v) で精製し、目的化合物を得た。

5 (2) 化合物 3 の合成

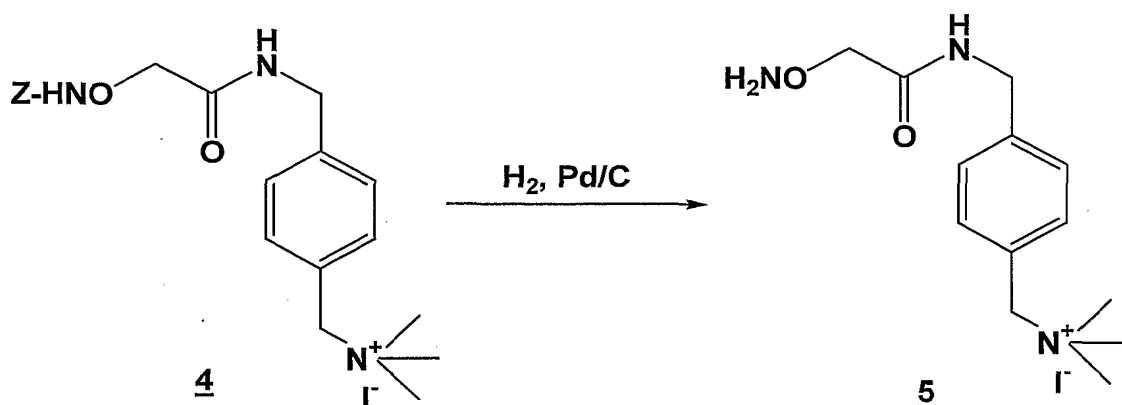


100 ml 三口フラスコに、化合物 2 2.0 g (10.3 mmol)、乾燥塩化メチレン 50.0 ml、トリエチルアミン 1.1 g (11.0 mmol) を加え、氷浴につけた。*p*-キシリレンジアミン 1.4 g (11.0 mmol) 及び BOP 試薬 4.8 g (11.0 mmol) を加え、氷浴下で 30 分間、室温に戻して 12 時間攪拌した。水を加えて反応を停止後、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去後、カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub> : 酢酸エチル = 1 : 1 v/v) で精製し、目的化合物を得た。

(3) 化合物 4 の合成

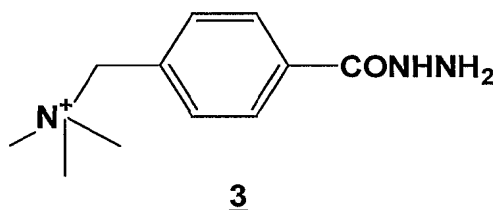


100 ml ナス型フラスコに化合物 3 2.0 g (6.0 mmol)、トルエン 50.0 ml およびヨウ化メチル 8.5 g (60.0 mmol) を加え 80 °C で加熱攪拌した。析出した沈殿を分取後、トルエンで洗浄し、目的化合物を得た。

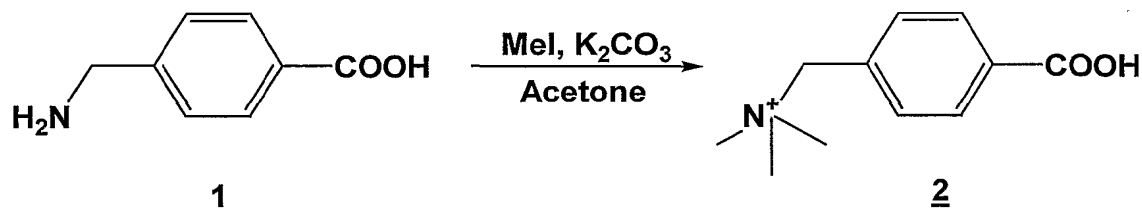
(4) 化合物 5 の合成

100 ml ナス型フラスコに化合物 4 2.0 g (5.0 mmol)、エタノールを加え窒素置換、および水素置換した。パラジウムカーボン 0.1 g を加え、室温で 5 時間攪拌した。パラジウムカーボンを濾別後、溶媒を減圧留去し、目的化合物を得た。

## 5 実施例 10 プロブの合成 (その 10)



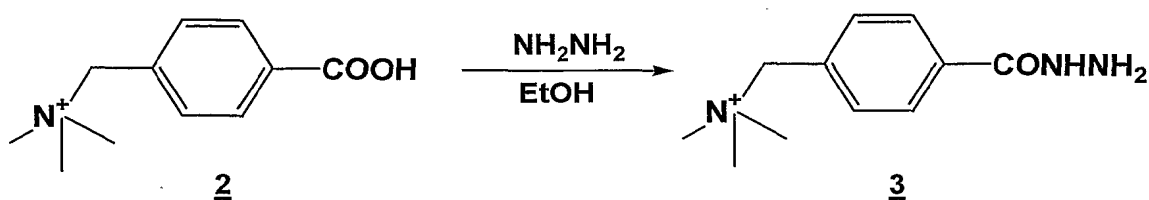
下記のスキームに従い、 $R^1$  として第四級アミン、 $R^2$  として  $-\text{NHNH}_2$  を有する上記化合物を合成した。

(1) 化合物 2 の合成

100 ml ナス型フラスコに化合物 1 3.0 g (19.8 mmol)、アセトン 50.0 ml、ヨウ化メチル 14.1 g (100.0 mmol)、炭酸カリウム 6.9 g (50.0 mmol) を加え、窒素気流下、24 時間還流した。炭酸カリウムを濾別後、溶媒を減圧留去した。反応混合物にクロロホルムを加え、析出した沈殿を分取した。クロロホルムで洗浄し、目的化合物を得た。

(2) 化合物 3 の合成



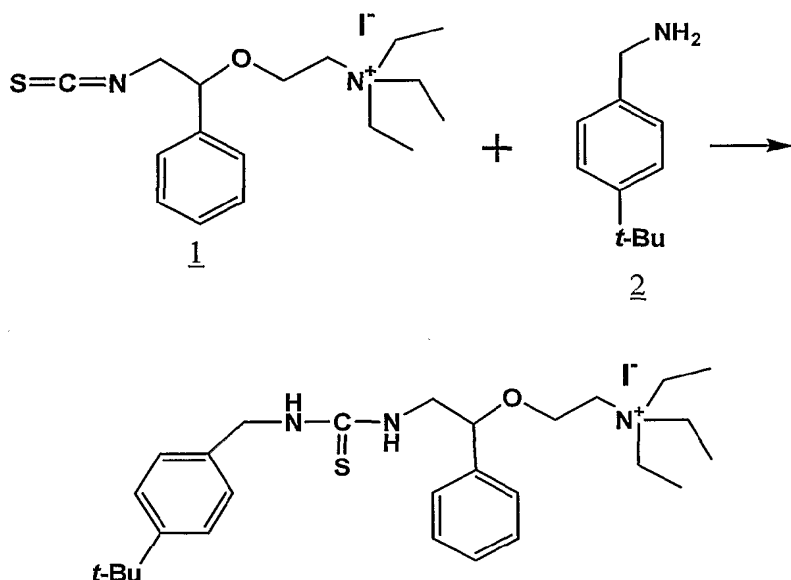


100 ml ナス型フラスコに化合物 2 2.0 g (6.25 mmol)、エタノール 30.0 ml、ヒドラジン 0.22 g (7.0 mmol) を加え、室温で 5 時間攪拌した。溶媒を減圧留去し、目的化合物を得た。

#### 実施例 11 エレクトロスプレーイオン化質量分析

##### 5 (1) 試料化合物とプローブの結合

下記反応式に示すように、実施例 1 で合成したプローブ（化合物 1）と、試料化合物（化合物 2）とを結合した。この反応は、試験管に 10.0 mM の化合物 1 および化合物 2 のアセトニトリル（または THF）溶液をとり、両者を混合後、室温で 30 分間攪拌することにより行った。



##### 10 (2) エレクトロスプレーイオン化質量分析

(1) で得られた反応産物を 1.0  $\mu$ M に希釈後、Applied Biosystems 社製の ESI-TOF 質量分析計 (Mariner) を用いて測定した。用いた質量分析計の構成を図 3 に示す。シリンジポンプより 10.0  $\mu$ L / min の流速で、常時移動溶媒 (MeOH、水等) を流した。試料溶液はマイクロシリンジを用いて、インジェクターから導入した。試料溶液は移動溶媒の流れに沿って、質量分析計に向かう。

質量分析計の設定条件は以下の通りであった。

スプレーチップ電位 (Spray tip potential) : 3450 V

ノズル電位 (Nozzle Potential) : 184 V

5 Quad RF 電圧 (Quad RF voltage) : 1000 V

噴霧器ガス流速 (Flow rate of Nebulizer gas) (N<sub>2</sub>) : 0.25 L/分

補助ガス流速 (Flow rate of Auxiliary gas) (N<sub>2</sub>) : 1.0 L/分

カウンターストリーム温度 (Temperature of the counter stream) : 160 °C

測定結果を図1に示す。なお、比較のため、プローブのみを 1.0 μM に希釈後、

10 同様にして質量分析を行った。結果を図2に示す。

図1及び図2から明らかなように、試料化合物とプローブとの結合物は、プローブ単独の場合とは異なる位置に鋭いピークを示した。これにより、上記方法により、エレクトロスプレーイオン化質量分析が高感度、高精度に行うことができることが明らかになった。

## 請求の範囲

## 1. 一般式[I]

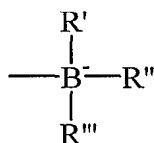


(但し、式中、 $R^1$ は溶媒中でイオンとなるイオン性官能基、 $R^2$ は他の物質と結合し得る構造、Aは任意のスペーサー部を示す)

で表される液状試料の質量分析用プローブ。

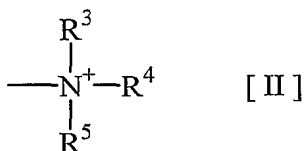
2.  $R^2$ は、他の官能基と反応して共有結合し得る官能基である請求項1記載のプローブ。

3.  $R^1$ は、アミン、カルボン酸若しくはその塩、スルホン酸若しくはその塩、又は



(但し、式中、 $R'$ 、 $R''$ 及び $R'''$ は同一又は異なる任意の基)である請求項2記載のプローブ。

4.  $R^1$ は、一般式[II]



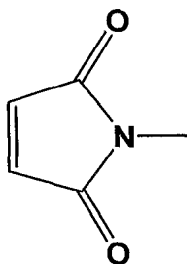
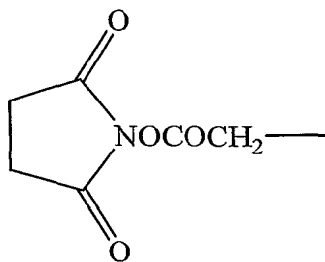
(但し、式中、 $R^3$ 、 $R^4$ 及び $R^5$ はそれぞれ独立に、水素又は任意の基を示す)

で表されるアミンである請求項3記載のプローブ。

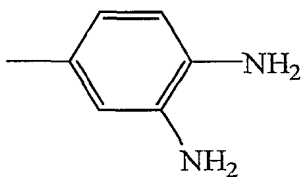
5. 前記一般式[II]中、 $R^3$ 、 $R^4$ 及び $R^5$ はそれぞれ独立に、水素、ハロゲン又は炭素数1～20の直鎖状若しくは分枝状アルキル基を示す)

で表される請求項4記載のプローブ。

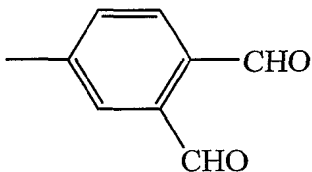
6.  $R^2$ はSCN-、ClO<sub>2</sub>S-



$\text{BrH}_2\text{C}-$ 、 $\text{ClOC}-$ 、 $\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)=\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{ONH}_2\cdot\text{HCl}$ 、  
 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHNH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{I}$ 、



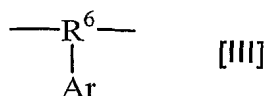
又は



5 である請求項2ないし5のいずれか1項に記載のプロープ。

7. Aは、疎水性部と親水性部を有する請求項2ないし6のいずれか1項に記載のプロープ。

8. Aは下記一般式[III]



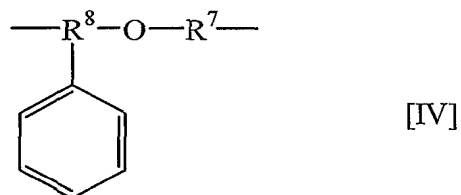
(式中、 $\text{R}^6$ は炭素数1～20のアルキレン基であり、その構成単位である

10  $-\text{CH}_2-$ の1個以上かつ半数以下が $-\text{O}-$ 、 $-\text{CO}-$ 及び $-\text{NH}-$ から成る群より選ばれる1又は2以上の基であってもよく、1又は2以上の炭素数1～20のアルキル基で置換されていてもよく、Arは、1ないし5個の炭素数1～20

のアルキル基で置換されていてもよい芳香環である)

で表される請求項7記載のプロープ。

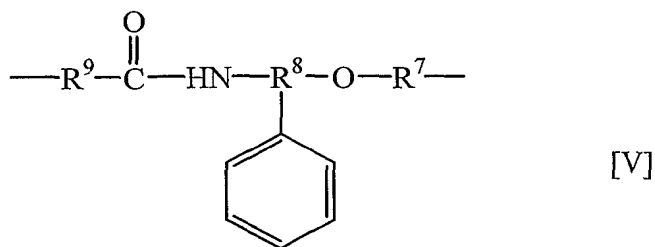
9. Aは、下記一般式[IV]



5

(但し、式中、 $R^7$ は存在してもしなくてもよく、存在する場合には炭素数1～6のアルキレン基を示し、 $R^8$ は、式中に示されるベンゼン環によって任意の水素が置換された炭素数1～6のアルキレン基を示す)

又は下記一般式[V]



(ただし、式中、 $R^7$ 及び $R^8$ は、式[IV]と同じ意味を示し、 $R^9$ は、存在してもしなくてもよく、存在する場合には炭素数1～6のアルキレン基を示す)

10

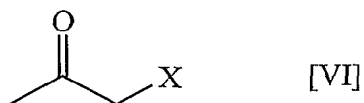
で表される請求項8記載のプロープ。

10. 分子量が1000以下である請求項2ないし9のいずれか1項に記載のプロープ。

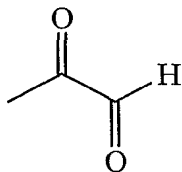
11. エレクトロスプレーイオン化質量分析用プロープである請求項2ないし10のいずれか1項に記載のプロープ。

15

12.  $R^2$ は、一般式[VI]



(ただし、Xはハロゲンを示す)、



又は、一般式 [VII]

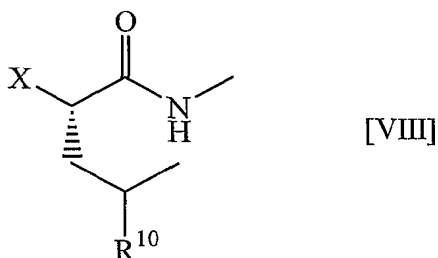


(ただし、 $n$  は 1 ~ 5 の整数を示す)

で表される基である請求項 2 記載のプロープ。

13.  $\text{R}^2$  は、光学活性を有する基である請求項 2 記載のプロープ。

5 14.  $\text{R}^2$  は、一般式 [VIII]

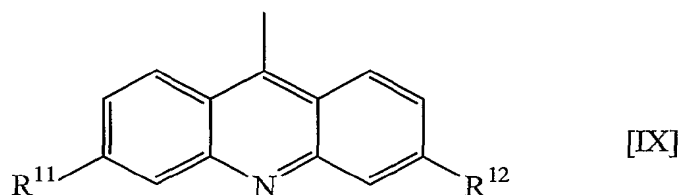


(ただし、 $X$  はハロゲン、 $\text{R}^{10}$  は炭素数 1 ~ 5 のアルキル基を示す)

で表される基である請求項 2 記載のプロープ。

15.  $\text{R}^2$  は、二本鎖核酸にインターカレートする構造を有する請求項 1 記載のプロープ。

10 16.  $\text{R}^2$  は、一般式 [IX]



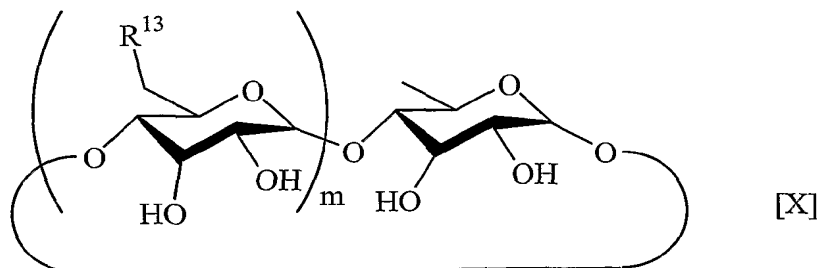
(ただし、 $\text{R}^{11}$  及び  $\text{R}^{12}$  は、それぞれ独立に、水素、ハロゲン、炭素数 1 ~ 5 のアルキル基又は炭素数 1 ~ 5 の  $\text{N,N}$ -ジアルキルアミノ基を示す)

で表される請求項 15 記載のプロープ。

17.  $\text{R}^2$  は、他の物質を包接し得る環状構造を有する請求項 1 記載のプロープ。

18.  $\text{R}^2$  は、一般式 [X]

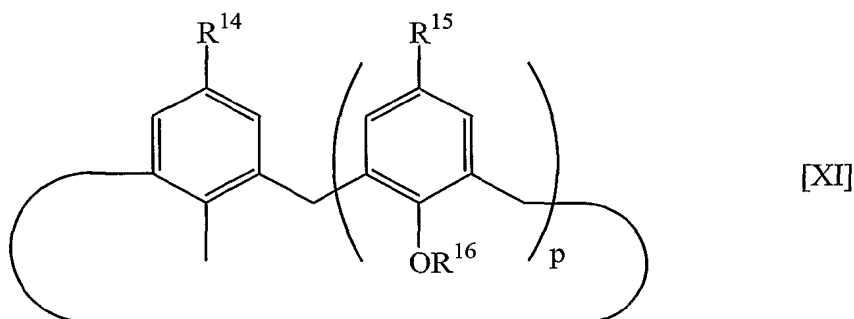
15



(ただし、 $R^{13}$ は水酸基、カルボキシル基又は炭素数1～5のアルキル基、 $m$ は5～9の整数を示す)

で表される請求項17記載のプロープ。

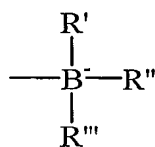
19.  $R^2$ は、一般式[XI]



5 (ただし、 $R^{14}$ 及び $R^{15}$ はそれぞれ独立に水素、ハロゲン又は炭素数1～5のアルキル基、 $R^{16}$ は炭素数1～5のアルキル基、又は末端にカルボキシル基、エステル基若しくはアミド基を有する炭素数1～5のアルキル基、 $p$ は3～7の整数を示す)

で表される請求項17記載のプロープ。

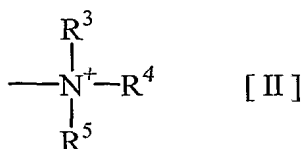
10 20.  $R^1$ は、アミン、カルボン酸若しくはその塩、スルホン酸若しくはその塩、又は



(但し、式中、 $R'$ 、 $R''$ 及び $R'''$ は同一又は異なる任意の基)

である請求項12ないし19のいずれか1項に記載のプロープ。

21.  $R^1$ は、一般式[II]



(但し、式中、 $\text{R}^3$ 、 $\text{R}^4$ 及び $\text{R}^5$ はそれぞれ独立に、水素又は任意の基を示す)

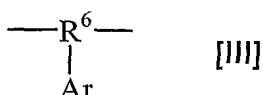
で表されるアミンである請求項20記載のプロープ。

22. 前記一般式[II]中、 $\text{R}^3$ 、 $\text{R}^4$ 及び $\text{R}^5$ はそれぞれ独立に、水素、ハロゲン又は炭素数1～20の直鎖状若しくは分枝状アルキル基を示す)

で表される請求項21記載のプロープ。

23. Aは、疎水性部と親水性部を有する請求項12ないし22のいずれか1項に記載のプロープ。

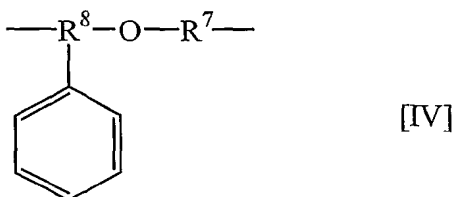
24. Aは下記一般式[III]



(式中、 $\text{R}^6$ は炭素数1～20のアルキレン基であり、その構成単位である $\text{---CH}_2\text{---}$ の1個以上かつ半数以下が $\text{---O---}$ 、 $\text{---CO---}$ 及び $\text{---NH---}$ から成る群より選ばれる1又は2以上の基であってもよく、1又は2以上の炭素数1～20のアルキル基で置換されていてもよく、Arは、1ないし5個の炭素数1～20のアルキル基で置換されていてもよい芳香環である)

で表される請求項23記載のプロープ。

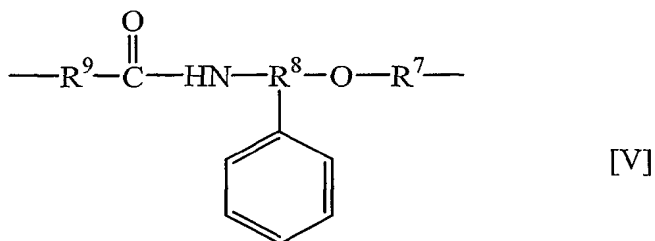
25. Aは、下記一般式[IV]



(但し、式中、 $\text{R}^7$ は存在してもしなくてもよく、存在する場合には炭素数1～6のアルキレン基を示し、 $\text{R}^8$ は、式中に示されるベンゼン環によって任意の水素が置換された炭素数1～6のアルキレン基を示す)

又は下記一般式[V]





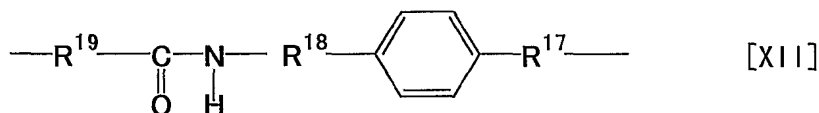
(ただし、式中、 $\text{R}^7$  及び  $\text{R}^8$  は、式 [IV] と同じ意味を示し、 $\text{R}^9$  は、存在してもしなくてもよく、存在する場合には炭素数 1 ～ 6 のアルキレン基又はフェニレン基を示す)

で表される請求項 24 記載のプロープ。

- 5      26.    A は、 $\text{---R}^6\text{---}$  (ただし、 $\text{R}^6$  は、一般式 [III] における  $\text{R}^6$  と同じ意味を示す) 又は  $\text{---R}^6\text{---Ar---R}^{6'}$  (ただし、 $\text{R}^6$  及び Ar は一般式 [III] における  $\text{R}^6$  及び Ar とそれぞれ同じ意味を示し、 $\text{R}^{6'}$  は存在していてもいなくてもよく、存在している場合には一般式 [III] における  $\text{R}^6$  と同じ意味を示す (ただし、式中の  $\text{R}^6$  と  $\text{R}^{6'}$  とは同一であっても異なってもよい))

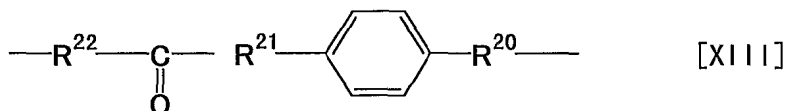
10      である請求項 1 ないし 22 のいずれか 1 項に記載のプロープ。

27.    A は、下記一般式 [XII]



(ただし、 $\text{R}^{17}$  及び  $\text{R}^{18}$  は、互いに独立に炭素数 1 ～ 6 のアルキレン基を示し、 $\text{R}^{19}$  は存在していてもいなくてもよく、存在している場合には炭素数 1 ～ 6 のアルキレン基を示す)

15      又は下記一般式 [XIII]



(ただし、 $\text{R}^{20}$  及び  $\text{R}^{21}$  は、互いに独立に炭素数 1 ～ 6 のアルキレン基を示し、 $\text{R}^{22}$  は存在していてもいなくてもよく、存在している場合には炭素数 1 ～ 6 のアルキレン基を示す)

で表される請求項 26 記載のプロープ。

- 20      28.    分子量が 1000 以下である請求項 12 ないし 27 のいずれか 1 項に記

載のプロープ。

29. エレクトロスプレーイオン化質量分析用プロープである請求項12ないし28のいずれか1項に記載のプロープ。

5 30. 請求項1ないし29に記載のプロープと、液状試料中の試料化合物とを結合させ、得られた結合物を質量分析にかけることを含む質量分析方法。

31. 請求項1ないし29に記載の化合物の、液状試料の質量分析用プロープを製造するための使用。

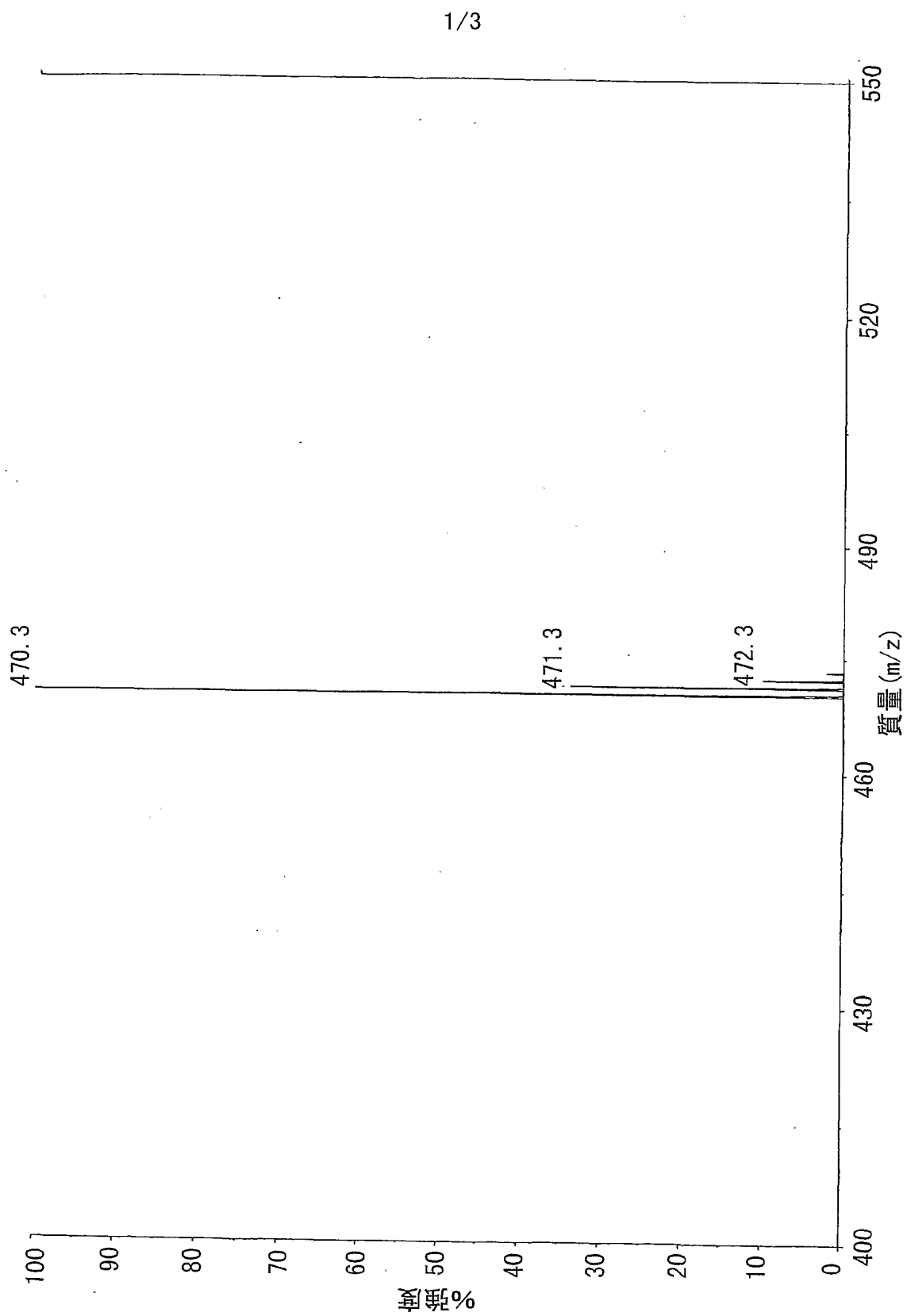


図 1

差替え用紙 (規則26)

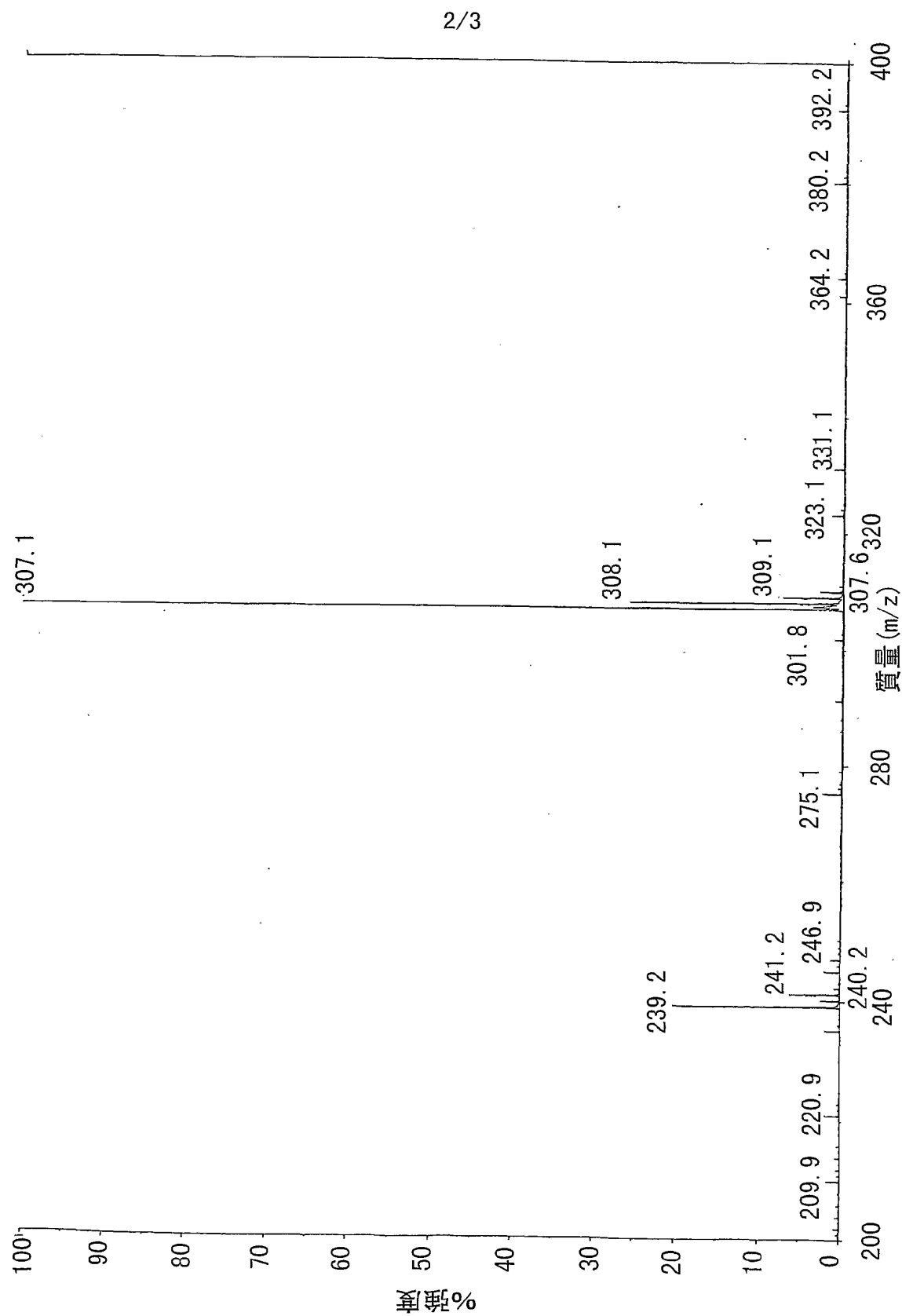


図 2

差 替 え 用 紙 (規則26)

3/3

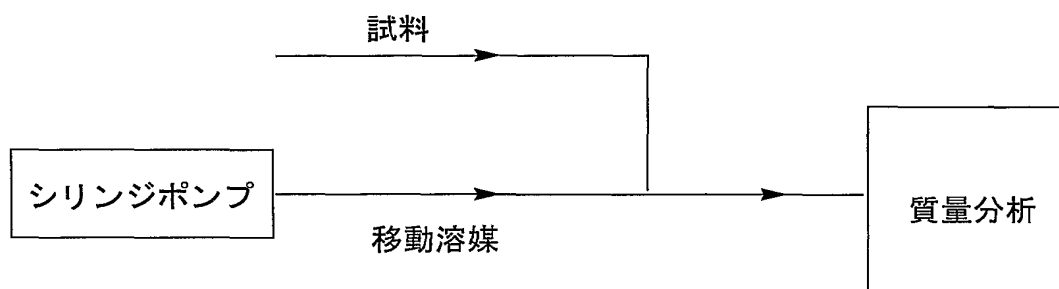


図 3

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/05961

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> G01N27/62, G01N30/72, H01J49/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> G01N27/62, G01N30/72, H01J49/00-49/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2001
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2001	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2001

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JICST FILE (JOIS)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 8-145948 A (Sumitomo Chemical Company, Limited), 07 June, 1996 (07.06.96), Full text; Figs. 1 to 3	1-6, 10, 11, 30, 31
A	Full text; Figs. 1 to 3 (Family: none)	7-9, 12-29
A	JP 8-145949 A (Sumitomo Chemical Company, Limited), 07 June, 1996 (07.06.96), Full text; Figs. 1 to 5 (Family: none)	1-31
A	JP 5-87794 A (Shimadzu Corporation), 06 April, 1993 (06.04.93), Full text; Figs. 1 to 2 (Family: none)	1-31
A	JP 6-102251 A (Hitachi, Ltd.), 15 April, 1994 (15.04.94), Full text; Figs. 1 to 5 (Family: none)	1-31

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
02 October, 2001 (02.10.01)Date of mailing of the international search report  
16 October, 2001 (16.10.01)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/05961

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 6-322274 A (Ciba-Geigy Corporation), 22 November, 1994 (22.11.94), Full text & EP 612994 A2                      & US 5506348 A	1-31

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl <sup>7</sup> G01N27/62, G01N30/72, H01J49/00		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl <sup>7</sup> G01N27/62, G01N30/72, H01J49/00-49/48		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2001年 日本国登録実用新案公報 1994-2001年 日本国実用新案登録公報 1996-2001年		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
JICST文献ファイル (JOIS)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 8-145948 A (住友化学工業株式会社) 7. 6月. 1996 (07. 06. 96) 全文、第1-3図	1-6, 10, 11, 30, 31
A	全文、第1-3図 (ファミリーなし)	7-9, 12-29
A	JP 8-145949 A (住友化学工業株式会社) 7. 6月. 1996 (07. 06. 96) 全文、第1-5図 (ファミリーなし)	1-31
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		
の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 02. 10. 01		国際調査報告の発送日 16.10.01
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 鈴木 俊光 電話番号 03-3581-1101 内線 3292



C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 5-87794 A (株式会社島津製作所) 6. 4月. 1993 (06. 04. 93) 全文、第1-2図 (ファミリーなし)	1-31
A	JP 6-102251 A (株式会社日立製作所) 15. 4月. 1994 (15. 04. 94) 全文、第1-5図 (ファミリーなし)	1-31
A	JP 6-322274 A (チバガイギー アクチェンゲゼルシャフト) 22. 11月. 1994 (22. 11. 94) 全文 &EP 612994 A2 &US 5506348 A	1-31